

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU
(*Camelia Sinensis* (L.)) PADA MENCIT AUTISME YANG
DIINDUKSI ASAM VALPROAT**



Oleh :

**Yeni Endrawati
19133937A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU
(*Camelia Sinensis* (L.)) PADA MENCIT AUTISME YANG
DIINDUKSI ASAM VALPROAT**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Yeni Endrawati
19133937A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camelia Sinensis (L.)*) PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI ASAM VALPROAT

Oleh :
Yeni Endrawati
19133937A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 9 Agustus 2017

Mengetahui ,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

(Prof. Dr. R.A Oetari, SU.,MM.,M.Sc, Apt)

Pembimbing Utama

Dr. Jason Merari P., M.M., M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

Dwi Ningsih, M.Farm., Apt
Penguji :

1. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt.
2. Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt.
3. Drs. Mardiyono. M.Si
4. Dr. Jason Merari P., M.M., M.Si., Apt.

1.
2.
3.
4.

PERSEMBAHAN

KUPERSEMBAHKAN KARYAKU INI KEPADA:
ALLAH SWT DAN PARA MALAIKAT-NYA, BAIK YANG TERLIHAT MAUPUN TIDAK
TERLIHAT YANG TAK SANGGUP AKU SEBUTKAN SATU-SATU YANG SELALU
SETIA UNTUK MEMBANTU MENYELESAIKAN KARYAKU TUGAS AKHIR.

**Teristimewa dan terhormat untuk Bapak Sugimin dan Ibu Painem
kedua adik ku “Siska Diyah Feronika dan Yumna Hibatillah”
Karya ini ku persembahkan
Untuk yang tercinta, keluarga, sahabat, dan teman yang tidak dapat saya
sebutkan satu persatu, terimakasih karena selalu mendukung dan memotivasi
saya**

“ Bermimpilah setinggi langit, jika engkau jatuh, engkau akan jatuh diantara bintang-bintang“

(Ir. Soekarno)

**“ Jangan mengeluhkan hal-hal buruk yang datang dalam hidupmu.
Tuhan tak pernah memberikannya, kamulah yang membiarkannya
datang “**

(R. A. Kartini)

Ya Allah...

Berikanlah aku Ilmu yang bermanfaat

Rizqi yang baik dan Amal yang diterima

(Ibnu Majjah no. 452)

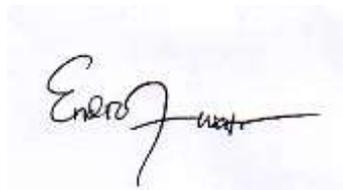
*‘Ilmu tanpa agama lumpuh. Agama tanpa ilmu buta’
(Albert Einstein)*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Agustus 2017

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Yeni Endrawati', written over a light blue rectangular background.

Yeni Endrawati

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camelia Sinensis* (L.)) PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI ASAM VALPROAT”**. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Jason Merari Peranginangin., M.Si.,M.M.,Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dwi Ningsih,S.Si., M.Farm.,Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan koreksi pada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Bapak, ibu, adik-adik dan semua keluarga terima kasih untuk do'a, dukungan dan semangat yang diberikan
7. Sedulur (Dwi Apriyandasari, Mufaricha Nur'Ariroh ,Zahrina Fildzah A, Nur Fa'iza, Marwin Alfina Nurrahman, Ari Wahyu Utomo) terima kasih untuk semangat, bantuan, waktu, dan kenangannya.
8. Big thanks buat Team autis uyeeeh (Dwi apriyandasari dan Mufaricha Nur'aroroh) gak sia-sia perjuangan berangkat subuh ke jogjanya.
9. Terimakasih buat Dwi sulistyawati (ncul) yang selalu saya recokin tiap malamnya, mbak Ani wijayanti teman curhat terbaik, Audrey temen curhat

skripsiku, mbak Tina yang sudah seperti emakku, Ajeng temen main dan buat (team kasus bele-bele-KU) makasih buat bantuannya, ilmu, pengalaman, buat canda tawa, omelan, dan bantuan selama disolo 4 tahun ini.

10. Teman-teman angkatan 2013, teman-teman teori 4, Teman-teman FKK 4 dan seluruh teman yang tak bisa disebutkan satu per satu yang selalu mendukung saya dan sersedia saya repotkan hingga skripsi ini selesai.
11. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, Agustus 2017

Penulis

Yeni Endrawati

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|----------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| PENGESAHAN SKRIPSI | ii |
| PERSEMBAHAN..... | iii |
| PERNYATAAN..... | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI..... | vii |
| DAFTAR TABEL..... | x |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xii |
| INTISARI..... | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar belakang..... | 1 |
| B. Rumusan masalah..... | 4 |
| C. Tujuan penelitian..... | 4 |
| D. Manfaat penelitian..... | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| A. Tanaman Teh (<i>Camelia sinensis</i> (L.))..... | 5 |
| 1. Sistematika tanaman..... | 5 |
| 2.1. Teh hitam..... | 5 |
| 2.2. Teh putih..... | 5 |
| 2.3. Teh hijau..... | 6 |
| 3. Nama simplisia | 6 |
| 4. Morfologi tanaman | 6 |
| 5. Kandungan dan manfaat tanaman | 7 |
| 5.1 Alkaloid..... | 7 |
| 5.3 Saponin..... | 7 |
| 5.4 Flavonoid..... | 8 |
| 6. Manfaat daun teh hijau | 9 |
| B. Simplisia..... | 9 |
| Pengertian simplisia | 9 |

| | | |
|-------------------------------------|---|--------|
| | Pengeringan..... | 9 |
| C. | Pelarut | 10 |
| D. | Metode Penyarian..... | 10 |
| | 1. Ekstraksi | 10 |
| | 2. Meserasi..... | 11 |
| E. | Asam Valproat | 12 |
| F. | Autisme | 12 |
| G. | Antioksidan | 15 |
| | 1. Pengertian antioksidan | 15 |
| | 2. Macam-macam antioksidan..... | 15 |
| | 2.1. Antioksidan primer | 15 |
| | 2.2. Antioksidan sekunder..... | 15 |
| | 2.3. Antioksidan tersier | 16 |
| H. | Metode..... | 16 |
| | 1. Pengamatan Perilaku Berulang (<i>Repeitive Behaviors</i>)..... | 16 |
| | 1.1 <i>Murble Burying</i> | 16 |
| | 1.2 <i>Self-grooming dan Digging</i> | 16 |
| | 2. Pengamatan Intelegensia (Labirin Y)..... | 17 |
| I. | Hewan uji | 17 |
| | 1. Sistematika mencit putih menurut Sugiyanto (1995) | 17 |
| | 3. Biologi mencit | 18 |
| | 4. Reproduksi mencit..... | 18 |
| | 5. Karakteristik mencit | 18 |
| J. | Landasan Teori..... | 18 |
| K. | Hipotesis..... | 20 |
| BAB III METODE PENELITIAN | | 21 |
| A. | Populasi dan Sampel | 21 |
| | 1. Populasi | 21 |
| | 2. Sampel | 21 |
| B. | Variabel Penelitian | 21 |
| | 3. Identifikasi variabel utama | 21 |
| | 4. Klasifikasi variabel utama | 21 |
| | 5. Definisi operasional variabel utama | 22 |
| C. | Alat dan Bahan..... | 23 |
| | 1. Alat | 23 |
| | 2. Bahan..... | 23 |
| | 3. Hewan Uji..... | 23 |
| D. | Jalannya Penelitian..... | 23 |
| | 1. Pengambilan bahan..... | 23 |
| | 2. Identifikasi tanaman teh hijau | 24 |
| | 3. Pembuatan serbuk teh hijau..... | 24 |
| | 4. Kadar lembab serbuk daun teh hijau | 24 |
| | 5. Pembuatan ekstrak maserasi teh hijau..... | 24 |
| | 6. Uji bebas alkohol..... | 25 |
| | 7. Identifikasi kualitatif ekstrak teh hijau | 25 |

| | | |
|----------------|--|----|
| 7.1 | Pemeriksaan organoleptik | 25 |
| 7.2 | Identifikasi flavonoid | 25 |
| 7.3 | Identifikasi alkaloid | 25 |
| 7.4 | Identifikasi saponin | 26 |
| 8. | Penentuan Dosis | 26 |
| 8.1 | Dosis asam valproat..... | 26 |
| 8.2 | Dosis ekstrak etanol daun teh hijau | 26 |
| 9. | Pembuatan Larutan Uji..... | 26 |
| 9.2. | Larutan Asam Valproat | 26 |
| 10. | Pengelompokan hewan uji..... | 27 |
| 11. | Prosedur Uji Perilaku Berulang..... | 27 |
| 11.1 | Murble burying. | 27 |
| E. | Analisis Statistik | 28 |
| F. | Skema Penelitian..... | 29 |
| | | |
| BAB IV | HASIL DAN PEMBAHASAN | 30 |
| | | |
| A. | Teh Hijau..... | 30 |
| 1. | Identifikasi tanaman teh (<i>Camelia sinensis</i> (L.)) | 30 |
| 2. | Penetapan kadar kelembapan serbuk daun teh hijau | 30 |
| 3. | Pembuatan ekstrak etanol daun teh hijau | 30 |
| 4. | Tes bebas etanol ekstrak daun teh hijau | 31 |
| 5. | Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun teh hijau..... | 31 |
| B. | Hasil Uji Autisme..... | 32 |
| 1. | Pengamatan Perilaku Berulang (<i>Repeitive Behaviors</i>)..... | 33 |
| 1.1 | <i>Murble Burying</i> | 33 |
| 1.2 | <i>Self-grooming</i> dan <i>Digging</i> | 35 |
| 2. | Pengamatan Intelegensia (Labirin Y-Maze)..... | 37 |
| | | |
| BAB V | KESIMPULAN DAN SARAN | 41 |
| | | |
| A. | Kesimpulan | 41 |
| B. | Saran..... | 41 |
| | | |
| DAFTAR PUSTAKA | | 42 |
| | | |
| LAMPIRAN | | 45 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. Hasil Penetapan serbuk teh hijau | 30 |
| Tabel 2. Hasil penetapan rendemen ekstrak etanol daun teh hijau | 31 |
| Tabel 3. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun teh hijau..... | 31 |
| Tabel 4. Hasil Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun teh hijau.... | 32 |
| Tabel 5. Rata-rata <i>murble burying</i> | 33 |
| Tabel 6. Rata-rata grooming dan Digging..... | 35 |
| Tabel 7. Rata-rata <i>y-maze</i> | 38 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 1. Susunan dari Katekin, Gallokatekin, Epikatekin, dan pigallokatekin | 8 |
| Gambar 2. Pengamatan grooming | 17 |
| Gambar 3. Pembuatan ekstrak uji etanol 70 % ekstrak daun teh | 25 |
| Gambar 4. Skema prosedur pengujian | 29 |
| Gambar 5. Murble Burying | 34 |
| Gambar 6. Grooming dan Digging | 36 |
| Gambar 7. Y-Maze | 39 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Hasil determinasi..... | 47 |
| Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji | 48 |
| Lampiran 3. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun teh hijau..... | 49 |
| Lampiran 4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun teh hijau | 49 |
| Lampiran 5. Hasil perhitungan dosis | 50 |
| Lampiran 6. Identifikasi senyawa daun teh hijau dengan metode reaksi kimia | 52 |
| Lampiran 7. Alat dan bahan..... | 53 |
| Lampiran 8. Hasil (Repetitive Behavior) Murble Burying hari 1 sampai 3..... | 54 |
| Lampiran 9. Hasil (Repetitive Behavior) Grooming dan Digging hari 1 sampai 3..... | 55 |
| Lampiran 10. Data y-maze..... | 56 |
| Lampiran 11. Berat badan Mencit..... | 57 |
| Lampiran 12. Gambaran Histopatologi otak mencit dengan perbesaran 100x | 58 |
| Lampiran 13. Hasil uji statistik one way anova Murble burying umur 23 | 59 |
| Lampiran 14. Hasil uji statistik one way anova Murble burying umur 25 | 61 |
| Lampiran 15. Hasil uji statistik one way anova Murble burying umur 27 | 64 |
| Lampiran 16. Hasil uji statistik one way anova digging grooming umur 24..... | 66 |
| Lampiran 17. Hasil uji statistik one way anova digging grooming umur 26..... | 68 |
| Lampiran 18. Hasil uji statistik one way anova digging grooming umur 28..... | 70 |
| Lampiran 19. Hasil uji statistik one way anova Y maze..... | 72 |

INTISARI

ENDRAWATI, Y., 2017, PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*Camelia Sinensis* (L.)) PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI ASAM VALPROAT, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA

Autisme merupakan gangguan perkembangan yang ditandai dengan gangguan komunikasi, gangguan interaksi sosial dan perilaku berulang. Penyebab autisme dapat dipicu oleh penggunaan obat salah satunya adalah asam valproat yang dapat menyebabkan kerusakan pada neuro anatomi otak dan fungsional jaringan otak yang berkaitan dengan stress oksidatif. Tanaman oba dengan potensi antioksidan dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan. Salah satu tanaman yang mempunyai antioksidan yang kuat adalah teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekstrak etanol daun teh hijau dalam menghambat gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat

Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit kelompok I: kontrol normal, kelompok II: kontrol negatif (asam valproat 8 mg/20 g bb), kelompok III, IV dan V adalah kelompok perlakuan dengan ekstrak daun teh hijau dosis 150 mg/kg, 300 mg/kg, dan 450 mg/kg. Penginduksian dengan asam valproat dilakukan pada mencit umur 14 hari, setelahnya umur 15 sampai 35 diberi ekstrak daun teh hijau sesuai kelompok dosis. Pengamatan uji autisme dilakukan dengan 2 metode yaitu *Repetitive behaviors* (perilaku berulang) dan intelegensia.

Hasil penelitian dari uji *Repetitive behaviors* (perilaku berulang) dan Intelegensia menunjukkan bahwa ekstrak daun teh hijau dosis 300 mg/kg dan 450 mg/kg dapat mengurangi terjadinya gangguan autisme. Dosis yang memberikan penurunan yang setara dengan normal adalah dosis 300 mg/kg.

Kata kunci : teh hijau, asam valproat, *repetitive behaviors*, intelegensia y-maze

ABSTRACT

Endrawati, Y., 2017, GIVING EFFECT OF ETHANOL LEAF GREEN TEA EXTRACT (*Camelia Sinensis* (L.)) ON THE AUTISM MICE INDUCIBLE VALPROIC ACID, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA

Autism is a developmental disorder characterized by impaired communication, impaired social interaction and repetitive behaviors. The cause of autism may be triggered by the use of drugs one of them is valproic acid that can cause damage to the brain and functional neuro-anatomy of brain tissue associated with oxidative stress. Oba plants with antioxidant potential may be used as an alternative pengobatan. One of the plants mempunyai powerful antioxidants is green tea (*Camellia sinensis* (L.)) The purpose of this study was to determine the ethanol extract of green tea leaves inhibits autism disorder in mice induced by valproic acid

This study used 25 mice were divided into 5 groups, each group consisting of 5 mice Group I: normal control, group II: negative control (valproic acid 8 mg / 20 g bb), Group III, IV and V are the group treated with green tea leaf extract dose of 150 mg / kg, 300 mg / kg, and 450 mg / kg. Inducing with valproic acid performed in mice 14 days old, after age 15 to 35 were given green tea leaf extract appropriate dose group. Observations autism test is done by two methods: Repetitive behaviors (*repetitive behavior*) and intelligence.

The results of the test Repetitive behaviors (*repetitive behavior*) and Intelligence indicates that green tea leaf extract dose of 300 mg / kg and 450 mg / kg can reduce the occurrence of autism disorders. Doses are on the decline is equivalent to a normal dose of 300 mg / kg.

Keywords: green tea, valproic acid, repetitive behaviors, intelligence y-maze

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Autisme pada anak atau *Autistic Spectrum Disorder* (ASD) merupakan gangguan perkembangan yang ditandai dengan gangguan komunikasi, gangguan interaksi sosial, dan perilaku berulang. Autisme merupakan suatu gangguan perkembangan yang sangat kompleks yang secara klinis ditandai oleh adanya tiga gejala utama berupa kualitas yang kurang dalam kemampuan interaksi sosial dan emosional, kemampuan komunikasi timbal balik dan minat yang terbatas, serta perilaku yang disertai gerakan berulang tanpa tujuan (sterotip), dan adanya respon yang tidak wajar terhadap pengalaman sensorisnya. Ketiga gejala utama ini yang membedakan antara anak autisme dengan anak-anak yang lainnya, sekaligus yang mengakibatkan mereka mengalami hambatan dalam perilaku adaptifnya (Soendari 2010).

Data dari *United Nations Education, Scientific and Cultural Organization* (UNESCO) tahun 2011 mencatat terdapat sekitar 35 juta penyandang autisme di dunia. Hal ini berarti rata-rata 6 dari 1000 orang di dunia menyandang autisme. UNESCO melaporkan prevalensi autisme di Hongkong sebesar 1,68 per 1000 untuk anak di bawah usia 15 tahun. Hasil penelitian yang dilakukan *Centers of Disease Control and Prevention* (CDC) tahun 2008 mendapatkan prevalensi anak spektrum autisme ialah 1:80. Penelitian CDC selanjutnya menunjukkan adanya peningkatan prevalensi spektrum autisme, dimana tahun 2013 prevalensi penyandang spektrum autisme di Amerika Serikat 1:50. Di Indonesia belum ada data terbaru mengenai jumlah anak spektrum autis. Data terakhir di Indonesia pada tahun 2004 tercatat sebanyak 475 ribu penderita (Onibala *et al* 2016).

Prevalensi autisme terus meningkat, tetapi agen terapeutik untuk memperbaiki gejala-gejala autisme masih sangatlah terbatas (Kim *et al* 2014). Penyebab autisme belum diketahui dengan pasti. Faktor lingkungan memerankan peran penting dalam memicu autisme, meskipun kemudian terjadi gangguan autisme tidak hanya dari faktor lingkungan bisa diakibatkan karena genetik

(Altevogt *et al* 2008). Faktor lingkungan yang memerankan peran penting dalam autisme yaitu virus, logam berat dan penggunaan obat (Chang *et al* 2010).

Salah satu contoh dari penggunaan obat yang dicurigai sebagai pemicu terjadinya gangguan autisme adalah asam valproat. Asam valproat merupakan salah satu obat yang digunakan dalam pengobatan penyakit epilepsi dan bipolar. Penggunaan asam valproate dapat menyebabkan terjadinya perilaku abnormal, kesulitan dalam belajar dan cacat pada kelahiran.

Penggunaan asam vaproat dapat menyebabkan kerusakan pada neuro anatomi otak yang bisa mengubah fungsi tambahan dari otak. Kerusakan anatomi pada otak berpengaruh terhadap gangguan sensorik dan motorik pada penderita autisme oleh karena itu pada anak autisme akan susah fokus dan berkonsentrasi (Banji *et al* 2016). Asam valproat juga merusak fungsional jaringan otak yang berkaitan dengan rasa takut dan stress oksidatif (Anand dan Shekhar 2003). Stress oksidatif akan menyebabkan penurunan aktivitas berbagai antioksidan tubuh. Penurunan aktivitas antioksidan ini akan menyebabkan terbentuknya stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel, termasuk kerusakan pada sel-sel otak. Maka untuk itu diperlukan antioksidan yang didapatkan dari makanan seperti vitamin C, vitamin E dan polifenol teh hijau. Polifenol bermanfaat untuk menangkap radikal bebas sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein dan DNA dalam sel serta menghentikan perkembangbiakan sel-sel ganas (Afriza 2013).

Teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) merupakan minuman populer di seluruh dunia, dan menarik perhatian ilmiah terhadap kesehatan karena manfaatnya dalam pencegahan dan pengobatan kanker dan penyakit inflamasi. Kandungan epigallocatechin-3-gallate (EGCG) yang merupakan salah satu senyawa golongan tanin yang terdapat di dalam daun teh dapat memperbaiki morfogenesis otak dan dapat meningkatkan fungsi kognitif (Yanyan *et al* 2012). Berdasarkan penelitian teh hijau dapat mengurangi kerusakan sel otak pada mencit yang terpapar merkuri. Teh hijau mempunyai nilai IC₅₀ 3,17µg/mL dan mengandung 30-40% polifenol yang sebagian besar dikenal dengan katekin. Katekin (polifenol) adalah antioksidan yang kuat, lebih kuat dari pada vitamin E, vitamin C dan β-karoten.

Di dalam teh terdapat beberapa jenis katekin yaitu epikatekin (EC), epikatekin galat (ECG), epigallokatekin (EGC), epigalokatekin galat (EGCG), gallokatekin dan katekin (Syam 2006).

Dari latar belakang dan penelitian sebelumnya perlu dikembangkan untuk mengetahui pemberian ekstrak daun teh hijau secara prenatal dapat mencegah munculnya autisme yang disebabkan diinduksi asam valproat.

B. Rumusan masalah

1. Apakah ekstrak daun teh hijau dapat menghambat gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat?
2. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol daun teh hijau dalam menghambat gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat?

C. Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun teh hijau dalam menghambat gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat.
2. Untuk mengetahui berapakah dosis efektif pemberian ekstrak etanol daun teh hijau dalam menghambat paparan asam valproat pada mencit autisme.

D. Manfaat penelitian

1. Pemanfaatan tanaman obat tradisional yang efektif dan efisiensi terhadap pencegahan suatu penyakit terutama daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) yang masih jarang digunakan.
2. Memberikan suatu kontribusi terkini bagi dunia kesehatan dengan pemanfaatan tanaman daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) dapat digunakan sebagai perbaikan tingkah laku autisme.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Teh (*Camelia sinensis* (L.))

1. Sistematika tanaman

Kedudukan tanaman teh dalam sistematika tumbuhan adalah (Dalimarta 1999):

| | |
|------------|----------------------------------|
| Divisi | : Spermatophyta |
| Sub-divisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Bangsa | : Guttiferales |
| Suku | : Theaceae |
| Marga | : Camelliae |
| Jenis | : <i>Camellia sinensis</i> (L.). |

2. Klasifikasi teh

2.1. Teh hitam. Teh hitam merupakan teh yang berasal dari pucuk daun teh segar yang dibiarkan layu sebelum digulung, kemudian daun-daun tersebut teh tersebut dibiarkan selama beberapa jam sebelum dipanaskan dan dikeringkan. Pelayuan bertujuan untuk mengeluarkan sebagian cairan sel, merubah susunan sel, dan untuk menciptakan kondisi yang baik untuk proses penggilingan. Pelayuan dilakukan pada suhu 27-30°C selama 10 jam (Panuju 2008). Penggulungan bertujuan untuk memecah sel-sel daun, mengeluarkan cairan sel, dan merusak jaringan daun yang menyebabkan unsur-unsur di dalamnya termasuk polifenol dan beberapa enzim bergabung menjadi satu. Fermentasi dilakukan secara oksidatif enzimatis selama selama 40 menit sampai 4 jam pada suhu 25-32°C (Panuju 2008). Sedangkan pengeringan dilakukan untuk menghentikan aktivitas enzim sehingga proses fermentasi berhenti dan menurunkan kadar air sampai kira-kira 3% basis basah (kusumaningrum 2008).

2.2. Teh putih. Teh putih dihasilkan dari minimal treatment, dengan pengukusan dan pengeringan yang cepat. Teh dipanen ketika pucuk teh masih tertutupi oleh rambut putih halus dan daun tersebut belum sepenuhnya terbuka.

Setelah dipetik daun teh segar dikeringkan dan dilayukan dengan sinar matahari, dan daun tersebut dijaga agar tetap dalam keadaan lebih segar dibandingkan dengan teh hijau maupun teh hitam. Teh memiliki warna segar dibandingkan teh hijau dan memiliki perbedaan yang jauh dengan jenis teh lainnya (Anonim 2000).

2.3. Teh hijau. Teh hijau dihasilkan dari daun teh tanpa melalui tahap fermentasi, sehingga warnanya masih hijau dan masih mengandung tanin yang relatif tinggi (Anonim 2000). Dalam proses pengolahan teh hijau, proses fermentasi harus dihindari. Proses dimulai dengan pelayuan yaitu dengan cara daun teh yang baru dipetik, ditebarkan untuk dikurangi kadar airnya hingga menjadi layu. Daun yang telah layu digoreng atau sangria diatas wajan ada suhu 90°C selama 8-10 menit. Daun teh yang telah layu kemudian didinginkan dan digulung diatas serumbu bambu yang dibawahnya telah diletakkan arang yang membara atau menggunakan mesin pengeringan yang mempunyai suhu masuk 80-100°C dan suhu keluar 55-60°C selama 6-10 menit sehingga kadar air daun teh turun menjadi 5-8 %. Tahap akhir yang dilakukan adalah proses sortasi untuk memisahkan antara daun teh yang rusak dan yang tidak (Muchidin 1994).

3. Nama simplisia

Teh hijau memiliki nama lain yaitu *Thea sinensis*; *Thea assamica*; *Thea viridid*; *Camellia thea*; *Camellia theifera*; *Camellia bohea*. Nama daerah yaitu: teh (Indonesia), tea (Inggris, Amerika), Cha yei (China), Ocha (Jepang), Cha (Korea) Te (Italia).

4. Morfologi tanaman

Teh adalah tanaman yang berasal dari kawasan India bagian Utara dan Cina Selatan. Teh merupakan tanaman berdaun tunggal, tersebar, kaku, elips, ujung dan pangkal runcing, tapi bergerigi, panjang 12-14 cm, lebar 3 ½ - 4 ½ cm, pertulangan menyirip hijau. Batangnya berkayu, tegak bercabang-cabang, ujung ranting berambut, coklat kehijau-hijauan. Bunga teh berkelamin dua, diketiak daun diameter 3- 4 ½ cm, kelopak bentuk mangkok berwarna hijau, benang sari berbentuk lingkaran, pangkal menyatu, melekat pada dua mahkota pada bagian dalam lepas, tangkai sari (kurang lebih) 1 cm, berwarna putih kekuningan, kepala sari kuning, tangkai putik bercabang tiga, panjang (kurang lebih) 1 cm, hijau

kekuningan, mahkota bulat tidak berbulu, berlekatan berwarna kuning setelah tua berwarna coklat. Akarnya tunggang, berwarna putih kotor, biasanya tumbuh pada ketinggian 200–2300 m di atas permukaan laut (Dalimartha 1999).

5. Kandungan dan manfaat tanaman

Hasil penelitian kandungan kimia dari daun teh adalah flavonoid, saponin, tanin, kafein (2-3%), minyak atsiri, teofilin, tehobromin dan natural fluoride (Dalimartha 1999).

5.1 Alkaloid. Alkaloid adalah zat yang berasal dari tanaman yang mengandung nitrogen, biasanya dalam bentuk heterosiklik dalam ikatan primer, sekunder, tersier, kuaterner, bersifat basa mempunyai khasiat farmakologi tertentu yang jelas, umumnya berasa pahit. Alkaloid merupakan senyawa organik bersifat basa yang dihasilkan oleh sejumlah tanaman. Kadar alkaloid dalam tanaman sangat bervariasi tergantung cara penanaman dan waktu panen. Kebanyakan metode pada farmakope merupakan metode untuk penetapan kadar alkaloid jumlah. Biasanya alkaloid jumlah cara menganalisis dari kulit tanaman. Penyimpanan sampel meliputi pengolahan dan penyarian, pemurnian dan penetapan kadar. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tanaman menggunakan air yang diasamkan digunakan untuk melarutkan alkaloid sebagai garam, atau bahan tanaman dapat dibasakan dengan natrium karbonat, dan basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter (Robinson 1995).

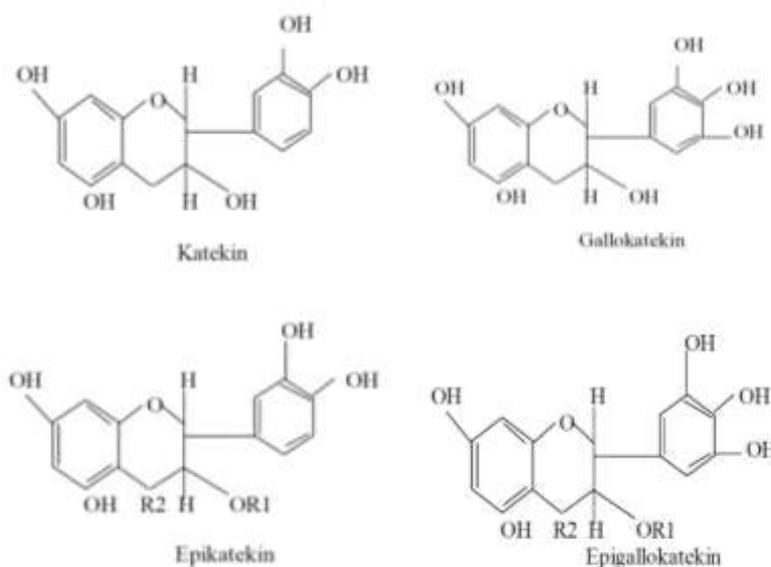
5.2 Tanin. Tanin adalah senyawa dalam tumbuhan yang berisi fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan dalam menyamak kulit. Tanin merupakan senyawa amof berwarna coklat kuning yang larut dalam pelarut organik polar. Beberapa tanin mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor, dan menghambat enzim serta dapat mendenaturasi protein (Robinson 1995).

5.3 Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat mendekteksi berdasarkan kemampuan busa yang dikocok dalam air dan pada konsentrasi rendah menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut eter. Saponin ada dua jenis yaitu yang mempunyai

glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida dengan struktur terpenoid tertentu yang mempunyai rantai samping spirokental (Harbone 1987).

5.4 Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa fenol yang mengandung 15 atom karbon sehingga rangka dasar yang mempunyai struktur dasar C₆-C₃-C₆. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar dan larut dalam air yang dapat juga diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada lapisan air setelah dikocok dengan eter. Flavonoid ini terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh (Harbone 1987).

Antioksidan polifenol yang terdapat dalam teh hijau adalah komponen yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Semakin banyak kandungan ketekin dalam teh makin besar potensi, sehingga pucuk teh yang muda merupakan bahan baku pengolahan teh yang sangat diharapkan. Semakin pucuk teh tua, semakin kecil potensi kualitasnya (Anonim 2002). Katekin merupakan senyawa dominan dari polifenol teh hijau dan terdiri dari epikatekin (EC), epikatekin gallat (ECG), epigallokatekin (EGC), epigallokatekin-3-gallat (EGCG), katekin dan gallokatekin (GC). Salah satu polifenol yang paling populer adalah katekin dalam bentuk epigallokatekin-3-gallat (EGCG) yang pada penelitian terbukti dapat meningkatkan kemampuan kognitif otak (Yanyan *et al* 2012).



Gambar 1. Susunan dari Katekin, Gallokatekin, Epikatekin, dan pigallokatekin (Yamanishi 1968)

6. Manfaat daun teh hijau

Teh sudah dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai bahan minuman sehari-hari (Carmen *et al* 2006). Teh hijau memiliki manfaat yang banyak baik untuk kesehatan maupun kecantikan. Didalam terdapat senyawa katekin. Secara medis senyawa katekin teh hijau banyak manfaat seperti mampu mengurangi resiko kanker dan tumor, menurunkan kadar kolesterol darah, mencegah tekanan darah tinggi, membunuh bakteri dan jamur, membunuh virus-virus influenza. Selain itu dari beberapa hasil riset, teh hijau sudah banyak dikenal sebagai obat berbagai penyakit, seperti aneka kanker, stroke, gangguan jantung, keluhan gastrointestinal, perawatan gigi, perawatan kulit, mencegah artritis, mencegah kerusakan hati dan sebagai penurun berat badan. Selain itu pada teh hijau sebagian besar mengandung ikatan biokimia yang disebut dengan polifenol. Polifenol yang terkandung dalam teh hijau biasa disebut dengan tanin. Tanin dalam teh sebagian besar tersusun atas katekin (Maretanin 2006).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain bahwa yang telah dikeringkan. Simplisia nabati berupa tanaman utuh atau bagian tanaman dan eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan yang belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelican atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Anonim 1979).

2. Pengeringan

Proses simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Dalam pengeringan simplisia yang paling diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan,

kelembaban, luas permukaan bahan. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30-90°C tetapi suhu yang terbaik pada simplisia adalah tidak melebihi 60°C. pengeringan dengan sinar matahari langsung menggunakan tempat yang mempunyai dasar yang berlubang atau berpori seperti anyaman bambu, kain kasar, dan sebagainya. Pada umumnya dasar tempat pengeringan tersebut bukan dari logam (Depkes RI 1985).

C. Pelarut

Pelarut merupakan suatu zat yang digunakan untuk melarutkan suatu zat lain atau suatu obat dalam preparat larutan. Pemilihan menstrum didasarkan pada pencapaian ekstrak yang sempurna tetapi juga ekonomis untuk mendapatkan zat aktif dari bahan obat tumbuhan sambil menjaga agar zat yang tidak aktif terekstraksi seminimum mungkin (Ansel 1989).

Pemilihan penyari harus mempertimbangkan berbagai faktor berdasarkan sifat fisika dan kimianya dan ditinjau dari segi ekonomi dan keberadaannya yang mudah untuk diperoleh. Cairan penyari yang baik mempunyai kestabilan fisika dan kimia yang baik, netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak mempengaruhi zat berkhasiat dan selektif dalam menarik zat berkhasiat yang dikehendaki (Anonim 1986).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Etanol dipilih karena sifatnya yang dapat melarutkan flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, polifenol dan saponin yang terkandung dalam tanaman yang dicari. Etanol juga memiliki kelebihan karena lebih selektif, dan tidak dapat ditumbuhi oleh kapang dan mikroorganisme (Voigt 1995).

D. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi yaitu penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan. Dalam banyak hal zat

aktif dari tanaman obat yang secara umum mempunyai sifat kimia yang sama, mempunyai sifat kelarutan yang sama dan dapat diekstraksi secara simultan dengan pelarut tunggal atau campuran. Proses ekstraksi mengumpulkan zat aktif dari bahan mentah obat dan mengeluarkannya dari bahan sampingan yang tidak diperlukan. Metode ekstraksi dilakukan berdasarkan persamaan faktor sifat dari suatu bahan mentah atau simplisia yang disesuaikan dengan macam metode ekstraksi yang digunakan untuk memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel 1989).

2. Meserasi

Meserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Proses meserasi diawali dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari sampai meresap dan melunakan susunan sel sehingga zat-zat akan terlarut. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan agar terlindung dari cahaya matahari langsung (mencegah terjadinya reaksi katalis akibat cahaya dan terjadinya perubahan warna) kemudian dikocok kembali (Voigt 1994).

Proses meserasi pada umumnya dilakukan dengan cara: 10 bagian simplisia dicampurkan dengan 75 bagian cairan penyari dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil dilakukan pengadukan berulang-ulang untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya tetap terjaga antara larutan di dalam sel dan larutan di luar sel (Ansel 1989). Setelah perendaman dilakukan penguapan dengan evaporator dan dimasukkan ke oven untuk menghasilkan ekstrak kental.

Pemilihan cairan penyari yang digunakan dalam ekstraksi didasarkan pada daya larut zat aktif dan zat yang tidak aktif (Ansel 1989). Keuntungan penyarian dengan meserasi adalah peralatan yang digunakan dan cara pengerjaan yang sederhana dan mudah dipakai. Kerugiannya membutuhkan waktu yang relatif lama karena pengerjaannya yang lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes 1986).

E. Asam Valproat

. Asam valproat (dipropilasetat atau 2 propilpentanoat) adalah salah satu pengobatan empiris untuk penyakit epilepsi generalisata, selain itu valproat merupakan terapi lini pertama pada pasien yang memiliki keluhan kejiwaan sindrom bipolar episode manik bersama dengan obat pilihan lain yaitu lithium karbonat dan carbamazepine. Valproat juga dapat digunakan sebagai terapi profilaksis migrain (Lubis fauziah dan fatriyadi jhon 2016). Komponen penyusun asam valproat adalah asam lemak yang disintesis sebagai analog asam valerik, ditemukan di valerian (*Valleriana officinalis*) pada tahun 1882 yang pada masa tersebut digunakan sebagai zat pelarut organik. Efek anti-epileptik valproat ditemukan secara tidak sengaja oleh seorang peneliti dari Prancis, Pierre Eymard, yang menggunakan valproat sebagai zat pembawa dari zat lain yang aktifitas anti kejangnya sedang diteliti. Pierre juga menemukan bahwa valproat dapat mengatasi kejang yang diinduksi oleh pentylene tetrazol pada mencit (Bromley *et al* 2014)

Dosis pemberian valproat sebagai terapi *maintenance* epilepsi adalah 3 x 200 mg per hari, dan jika perlu setelah 3 hari dosis dinaikkan menjadi 3 x 400 mg per hari dengan dosis harian lazim adalah 0,8 – 1,4 gram. Berdasarkan analisis (Bromley *et al* 2014), paparan valproat pada dosis lebih dari 800 – 1000 mg per hari akan meningkatkan risiko gangguan perkembangan neuron pada anak. Penelitian (Nadebaum 2011) dan *The Nead Study* menyatakan bahwa dosis valproat yang tinggi akan berdampak langsung dengan rendahnya kemampuan bahasa pada anak, dan diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap manifestasi gangguan perkembangan neuron lainnya.

F. Autisme

Autisme adalah gangguan perkembangan otak pada anak yang berakibat tidak dapat berkomunikasi dan tidak dapat mengekspresikan perasaan dan keinginannya, sehingga perilaku hubungan dengan orang lain terganggu (Sastra 2011). Autisme termasuk ke dalam katgori gangguan perkembangan perpasive (*perpasive depelopmental disorder*). Gangguan perkembangan adalah bila terjadi

keterlambatan atau penyimpangan perkembangan dan untuk gejala autisme biasanya ditandai dengan adanya distorsi perkembangan fungsi psikologis secara majemuk yang meliputi, perkembangan keterampilan, sosial dan berbahasa, seperti perhatian, persepsi daya nilai, terhadap realitas, dan gerakan-gerakan motorik (Karyn 2004). Autisme adalah gangguan perkembangan berat yang mempengaruhi cara seseorang dalam melakukan komunikasi, bereaksi, dan bertingkah laku dalam kehidupan. Perilaku autisme biasanya ditandai dengan rendahnya berkomunikasi verbal maupun non verbal, interaksi sosial yang terkesan aneh, emosi yang tidak stabil, berubah-ubah dan persepsi sensorik yang tidak optimal (Handojo 2004), beberapa karakteristik dari perilaku autisme pada anak-anak antara lain :

1. Bahasa/ komunikasi
 - a. Ekspresi wajah yang datar.
 - b. Tidak menggunakan bahasa /isyarat tubuh.
 - c. Jarang memaulai dengan komunikasi.
 - d. Tidak meniru aksi atau suara.
 - e. Bicara sedikit, atau tidak ada.
 - f. Intonasi atau ritme vokal yang aneh.
 - g. Tampak Tidak mengerti arti kata.
 - h. Mengerti dan menggunakan kata secara terbatas.
2. Hubungan dengan orang
 - a. Tidak responsif.
 - b. Tidak ada senyum sosial.
 - c. Tidak berkomunikasi dengan mata.
 - d. Kontak mata terbatas.
 - e. Tampak asyik bila dibiarkan sendiri.
 - f. Tidak melakukan permainan giliran.
 - g. Menggunakan tangan orang dewasa sebagai alat.
3. Hubungan dengan lingkungan
 - a. Bermain refetitif (diulang-ulang).
 - b. Marah atau tidak menghendaki perubahan-perubahan.

- c. Berkembangnya rutinitas yang kaku.
- d. Memperlihatkan ketertarikan yang sangat tak fleksibel.
- 4. Respon terhadap indera/ sensoris
 - a. Kadang panik terhadap suara-suara tertentu.
 - b. Sangat sensitif terhadap suara.
 - c. Bermain-main dengan cahaya dan pantulan.
 - d. Memainkan jari-jari di depan mata.
 - e. Menarik diri ketika disentuh.
 - f. Tertarik pada pola dan tekstur tertentu.
 - g. Sangat in aktif atau hiperaktif.
 - h. Seringkali memutar-mutar, membentur-bentur kepala, menggigit pergelangan.
 - i. Melompat-lompat atau mengepak-ngepakan tangan.

Penyebab Autisme itu sendiri, menurut para ahli dalam hasil penelitiannya menyatakan bahwa bibit autisme telah ada jauh hari sebelum bayi yang dilahirkan bahkan sebelum vaksinasi dilakukan. Patricia Rodier, seorang ahli embrio dari Amerika menyatakan bahwa gejala autisme dan cacat lahir itu disebabkan karena terjadinya kerusakan jaringan otak yang terjadi sebelum 20 hari pada saat pembentukan janin. Peneliti lainnya, Minshew menemukan bahwa anak yang terkena autisme bagian otak yang mengendalikan pusat memori dan emosi menjadi lebih kecil dari pada anak normal. Penelitian ini membuktikan bahwa gangguan perkembangan otak telah terjadi pada semester ketiga saat kehamilan atau pada saat kelahiran bayi.

Menurut Handojo (2004: 15) menyatakan penyebab autisme bisa terjadi pada saat kehamilan. Pada tri semester pertama, faktor pemicu biasanya terdiri dari ; infeksi (*toksoplasmosis, rubella, candida, dsb*), keracunan logam berat, zat aditif (MSG, pengawet, pewarna), maupun obat-obatan lainnnya.

G. Antioksidan

1. Pengertian antioksidan

Antioksidan adalah senyawa dalam kadar rendah yang mampu menghambat proses oksidasi. Substansi ini digunakan dalam melindungi tubuh dari radikal bebas dengan mekanisme menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga reaksi berantai akan terhambat (Dai & Thiharman 2010). Antioksidan memberikan elektronnya secara cuma-cuma kepada molekul radikal bebas sehingga reaksi berantai dari radikal bebas dapat dinetralkan. Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi tidak cukup kuat untuk berkompetensi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya oleh tubuh sendiri. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan dari luar. Antioksidan juga berkompetensi sesamanya sehingga membutuhkan campuran yang cukup tepat (Hernani & Rahardjo 2005). Antioksidan dibagi menjadi dua jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami yaitu antioksidan yang diperoleh dari bahan alami seperti betakaroten, vitamin C, dan vitamin E, flavonoid, isoflavon, antosianin, dan katekin (Winarsi 2007).

2. Macam-macam antioksidan

Antioksidan menurut mekanisme kerjanya dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier.

2.1. Antioksidan primer. Antioksidan primer dapat berfungsi untuk mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutuskan reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Contoh antioksidan primer, ialah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion transferase.

2.2. Antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder berfungsi untuk menangkap senyawa radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contohnya adalah vitamin C, vitamin E, betakaroten, flavonoid, isoflavon, antosianin, dan isokatekin (Winarsi 2007).

2.3. Antioksidan tersier. Antioksidan tersier berfungsi memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Contohnya yaitu enzim metionin sulfoksida raduktase yang memperbaiki DNA pada inti sel.

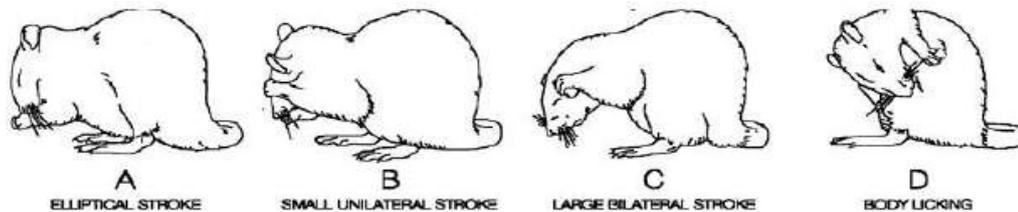
H. Metode

Efek paparan terhadap mencit diamati melalui pengamatan perilaku pada masing-masing kelompok serta dilakukan pada beberapa periode perkembangan. Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan *Intelegensia (Kecerdasan)* dan aktivitas berulang yang meliputi *Murple Burying*, dan *Self-grooming dan Digging*.

1. Pengamatan Perilaku Berulang (*Repeitive Behaviors*)

1.1 *Murple Burying*. Pengamatan perilaku berulang melalui uji *murble burying* dilakukan menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan (Thomas *et al* 2009) namun dengan sedikit modifikasi (Kim *et al* 2014). Uji dilakukan dengan cara mengisi kandang menggunakan sekam bersih dengan tinggi 3 cm. Mencit kemudian dimasukkan ke dalam kandang untuk habituasi selama 10 menit. Setelah habituasi, mencit dipindahkan dari kandang dan selanjutnya kandang tersebut dimasukkan kelereng sebanyak 20 buah (diameter 15mm) yang disusun 4x5. Mencit kemudian dikembalikan ke kandang uji yang telah berisi kelereng selama 20 menit. Parameter uji yang digunakan adalah jumlah kelereng yang dikuburkan (>50% kelereng ditutupi sekam) (Kim *et al* 2014).

1.2 *Self-grooming dan Digging*. Disamping pengamatan melalui uji *murble burying*, uji *grooming* dan *dinging* juga dapat mendukung pengamatan perilaku berulang pada mencit (Deacon 2006). Uji dilakukan dengan sedikit modifikasi (Kim *et al* 2014) yaitu dengan memasukkan mencit ke dalam kandang yang diisi sekam bersih dan dibiasakan selama 10 menit, selanjutnya waktu akumulatif grooming yang dicatat adalah grooming yang dilakukan pada semua bagian tubuh (Silverman *et al* 2010). Aktifitas grooming yang diamati seperti yang ditampilkan pada gambar.



Gambar 2. Pengamatan grooming

2. Pengamatan Intelegensia (Labirin Y).

Labirin tersusun dalam bentuk Y, sudut antara kaki sama persis (120°). Pada tahap adaptasi, pintu-pintu pada bagian labirin tidak dipasang. Pada saat hewan masuk pada percabangan di labirin, makanan dijatuhkan di sebuah kanan percabangan, jika hewan bereaksi positif dengan berlari menuju makanan maka pengujian bisa dilanjutkan pada tahap berikutnya. Pada tahap belajar, makanan diletakkan pada cabang sebelah kanan dari labirin sebelum hewan dilepaskan dari kandang. Pada tahap pengujian, ketiga pintu pada tiap cabang labirin ditutup dan makanan diletakkan dibelakang pintu cabang labirin sebelah kanan. Kondisi percobaan sama dengan kondisi pada tahap belajar. Waktu yang diperlukan untuk dapat mengambil makanan tersebut dicatat dengan stop watch selama 5 menit. Dilakukan 3 kali berturut-turut dan diulang setiap hari selama 3 hari (Fitrianingsih 2013).

I. Hewan uji

1. Sistematika mencit putih menurut Sugiyanto (1995)

| | |
|-----------|-----------------------|
| Filum | : Chordata |
| Sub Filum | : Vertebrata |
| Kelas | : Mamalia |
| Sub Kelas | : Placentalia |
| Bangsa | : Rodentia |
| Suku | : Muridae |
| Marga | : Mus |
| Jenis | : <i>Mus musculus</i> |

Nenek moyang mencit berasal dari mencit liar yang mempunyai warna bulu agouti (abu-abu), sedangkan pada mencit laboratorium lainnya berwarna

putih. Mencit hidup dalam daerah yang cukup luas penyebarannya, mulai dari iklim dingin, sedang, maupun panas dan dapat hidup terus menerus dalam kandang atau secara bebas sebagai hewan liar (Malole & Pramono 1989).

3. Biologi mencit

Banyak peneliti yang menggunakan mencit sebagai hewan percobaan. Hewan yang dibutuhkan untuk penelitian di laboratorium ataupun sebagai hewan piaraan adalah hewan yang mempunyai karakteristik produksi cepat, mudah dipelihara dengan biaya murah dan dengan cara penanganan yang mudah. Mencit (*Mus musculus*) adalah salah satu hewan yang banyak digunakan di laboratorium karena memiliki anatomi yang mirip dengan mamalia dan beberapa keunggulan dari mencit antara lain mudah dalam penanganan, siklus hidup pendek, pengadaan hewan ini tidak sulit dan dapat dipelihara dalam kandang yang terbuat dari bahan yang relatif lebih murah, meskipun hewan ini lebih rentan terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus, kuman, jamur, dan cacingan (Malole & Pramono 1989).

4. Reproduksi mencit

Lama bunting 19-21 hari, umur disapih 21 hari, umur dewasa 35 hari. Umur dikawinkan delapan minggu, berat dewasa jantan 20-40 g, betina 18-35 g, berat lahir 0,5-1,0 g, berat sapih 18-20 g, jumlah anak rata-rata enam, dapat 15 ekor. Kecepatan tumbuh 1 g/hari. Siklus estrus 4-5 hari, perkawinan pada waktu estrus, fertilitas dua jam setelah kawin, aktivitas nokturnal (malam) (Smith dan Mangkoewidjojo 1988).

5. Karakteristik mencit

Mencit termasuk ke dalam golongan hewan *omnivora*, sehingga mencit dapat memakan semua jenis makanan. Mencit juga termasuk hewan *nocturnal*, yaitu aktivitas hidupnya (seperti aktivitas makan dan minum) lebih banyak terjadi pada sore dan malam hari (Inglis 1980).

J. Landasan Teori

Autisme adalah gangguan perkembangan otak pada anak yang berakibat tidak dapat berkomunikasi dan tidak dapat mengekspresikan perasaan dan keinginannya, sehingga perilaku hubungan dengan orang lain terganggu (Sastra

2011). Kasus terjadinya autisme semakin meningkat tiap tahunnya, prevalensi penyandang spektrum autisme di Amerika Serikat 1:50 (Onibala *et al* 2016). Agen terapeutik untuk memperbaiki gejala-gejala autisme masih sangatlah terbatas (Kim *et al* 2014). Penyebab autisme salah satunya adalah penggunaan obat pada ibu hamil dan ibu menyusui, salah satu contoh dari penggunaan obat pada ibu hamil dan menyusui yang diperkirakan sebagai salah satu pencetus adalah asam valproat. (Bromley *et al* 2014) membandingkan beberapa hasil penelitian yang berkaitan dengan paparan valproat dan buruknya perkembangan neuron pada anak. Studi tersebut menyimpulkan bahwa risiko gangguan perkembangan neuron pada anak yang lahir dari ibu yang mengkonsumsi valproat selama hamil meningkat secara signifikan. Gangguan perkembangan yang dimaksud antara lain adalah ADS, gangguan bahasa, gangguan pengenalan lingkungan sekitar, dan skor IQ yang rendah. Teori lain menyebutkan bahwa valproat dapat meningkatkan kadar stres oksidatif fetus yang terfokus di otak fetus (Bromley *et al* 2014)

Akibat penggunaan asam valproat pada ibu hamil ataupun ibu menyusui dan pada anak dalam tumbuh kembang akan menimbulkan efek samping terjadinya peningkatan stres oksidatif yang akan menyebabkan penurunan aktivitas berbagai antioksidan tubuh. Penurunan aktivitas antioksidan ini akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel termasuk kerusakan pada sel-sel otak. Maka untuk itu diperlukan antioksidan ekstraselular seperti vitamin C, vitamin E dan polifenol teh hijau (Afriza 2013). Efek antioksidan senyawa fenolik berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Panovska *et al* 2005). Teh hijau mengandung polifenol yang merupakan antioksidan yang kuat (Afriza 2013).

Salah satu tanaman obat yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional untuk pencegahan penyakit autisme adalah daun teh hijau. Ekstrak daun teh hijau diteliti dapat berpengaruh terhadap jumlah nekrosis yang terjadi pada sel-sel otak mencit yang terpapar merkuri (Banji *et al* 2016). Hasil penelitian kandungan kimia dari daun teh adalah flavonoid, saponin, tanin, kafein (2-3%), minyak atsiri, teofilin, teobromin dan natural fluoride (Dalimartha 1999). Flavonoid sebagai

salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman yang dapat berperan sebagai antioksidan (Redha 2010).

Senyawa tersebut dicari dengan pelarut etanol 70%. Etanol 70% sangat efektif dalam menlarutkan bahan aktif yang bersifat polar dan semipolar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai. Penyarian dengan menggunakan metode ini dapat menarik zat aktif dari tanaman yang dibutuhkan seperti dalam senyawa EGCG dalam tanin yang merupakan senyawa utama yang digunakan dalam penelitian merupakan senyawa yang tidak tahan panas. Cairan penyari yang akan menarik zat-zat yang dibutuhkan. Keuntungan dari maserasi adalah dapat digunakan untuk menyari zat-zat yang tidak tahan panas pada pemanasan dan dengan alat yang sederhana. Kelemahannya adalah dalam penyariannya membutuhkan waktu yang lama serta penggojokkan yang selalu teratur (Voigt 1995).

K. Hipotesis

Berdasar urian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini :

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) dalam menghambat progres gangguan autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat gangguan autisme.

Kedua, ekstrak etanol daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) mempunyai dosis efektif dalam menghambat progres gangguan autisme pada mencit.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) yang diambil dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) secara acak berwarna hijau, daun paling kuncup sampai daun ketiga.

B. Variabel Penelitian

3. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini adalah aktivitas ekstrak etanol daun teh hijau hasil maserasi dengan pelarut etanol 70% terhadap pencegahan perilaku autisme pada mencit yang diinduksi asam valproat.

4. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang dapat diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol 70% daun teh hijau.

Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah perilaku mencit autisme setelah pemberian ekstrak etanol daun teh hijau dengan dosis yang berbeda-beda. Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah perilaku mencit autisme uji sesudah dan sebelum diberi perlakuan.

Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan yang mempengaruhi variabel terikat selain variabel bebas. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi daun teh hijau etanol 70%, kondisi fisik hewan uji meliputi berat badan mencit, galur, jenis kelamin, kondisi percobaan, laboratorium, zat penginduksi, dan peneliti.

5. Definisi operasional variabel utama

Pertama, serbuk daun teh hijau adalah serbuk hasil ekstraksi tanaman daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) yang diambil dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk adalah simplisia kering daun teh hijau yang dihaluskan dengan penggilingan dan diayak dengan pengayak ukuran mesh 40.

Ketiga, ekstrak daun teh hijau adalah hasil ekstraksi dari daun teh hijau (*Camelia sinensis*(L.)) dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan pada evaporator sampai didapatkan ekstrak kental teh hijau.

Keempat, hewan uji dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) yang berumur 14 hari dengan berat 10-15 g.

Kelima, asam valproat adalah bahan yang diberikan secara subkutan pada hari ke-14 yang akan menyebabkan radikal bebas dan menyebabkan stres oksidatif dan menyebabkan neurotoksis sehingga terjadi autisme pada mencit.

Keenam, metode pengujian menggunakan metode pengamatan perilaku berulang (*Repetitive Behaviors*), murble burying adalah metode dengan melihat prosentase mencit dalam menguburkan kelereng lebih dari 50% maka mencit terindikasi mengalami gangguan autisme. *Grooming* dan *digging* adalah perilaku berulang mencit dengan mengendus, berputar dan menggali dengan waktu yang telah ditentukan, dengan menunjukkan penurunan skor.

Ketujuh, metode pengujian intelegensia (y-maze) dengan mengukur memori jangka pendek mencit autisme, dengan parameter uji ketepatan mencit dalam melewati lengan tiap labirin y.

Kedelapan, dosis efektif adalah dosis yang dapat menghambat progres gangguan autisme yang berbeda bermakna dengan kelompok negatif.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat untuk membuat simplisia yaitu oven dengan suhu rendah dan konstan, mesin penggiling dan ayakan no.40. Alat penyari yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, evaporator, bejana maserasi, kain flannel, neraca elektrik, pipet, tabung reaksi, *beaker glass*. Alat untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan analitik, jarum oral, gelas ukur dan *beaker glass*, dan alat uji autisme.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak maserasi daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) diperoleh dari daerah Kemuning, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah yang telah dinyatakan bebas dari hama dan telah melalui prosedur pemanenan yang tepat dan menggunakan bahan penyari yaitu etanol 70%, CMC 0,5% . Untuk uji identifikasi senyawa tanaman alkohol, anhidrida asam asetat, kloroform, asam sulfat, HCl 2N, serbuk magnesium, natrium klorida, amil alkohol,, asam klorida, Steansy L formaldehid 3%, besi (III) klorida dan air suling.

3. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit putih (*Mus musculus*), umur 14 hari dengan berat badan rata-rata 10-15 g sebanyak 25 ekor. Pengelompokan dilakukan secara acak masing-masing 5 ekor per kelompok. Semua mencit dipelihara dengan cara yang sama, ukuran kandang yang sesuai dengan temperatur $30\pm 10^{\circ}\text{C}$.

Penerangan diatur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman harus selalu terkontrol agar mencegah kematian mencit terutama saat diinduksi asam valproat.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) dari daerah Kemuning, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah

2. Identifikasi tanaman teh hijau

Tahap awal penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dari tanaman tersebut, dan mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada daun teh terhadap kepustakaan *Flora of Java* (Backer 1968) dan dibuktikan oleh Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah.

3. Pembuatan serbuk teh hijau

Teh hijau yang sudah dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran atau bahan asing yang menempel pada daun. Setelah itu dilakukan pengeringan, pengeringan dilakukan dengan cara di oven pada suhu 50° hingga kering yang bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama (Voight 1994). Setelah itu dibuat serbuk diayak dengan ayakan nomor mesh 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.

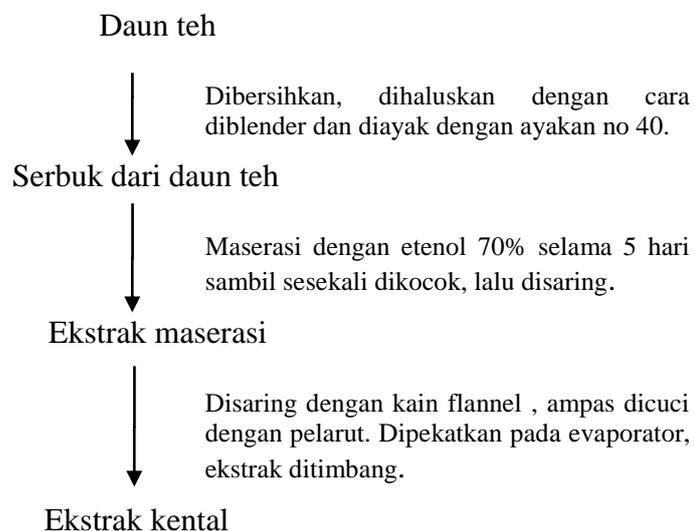
4. Kadar lembab serbuk daun teh hijau

Kadar lembab daun teh hijau dilakukan dengan cara serbuk daun teh hijau ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian diukur kadar lembab dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 50°C dan waktu pengeringan secara manual yaitu 15 menit. Penandaan hasil analisa setelah selesai yaitu sampai diperoleh bobot konstan yang dilakukan penimbangan sebanyak tiga kali. Kadar lembab memenuhi syarat dimana suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Kumalasari 2012).

5. Pembuatan ekstrak maserasi teh hijau

Serbuk daun teh kering yang sudah jadi kemudian di timbang 500 g, setelah itu dimasukan dalam botol tertutup berwarna gelap, ditambahkan etanol 70% sebanyak 3750 ml dengan perbandingan 1:7,5. Wadah tersebut dikocok, ditutup segera, kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari sinar matahari, didiamkan selama 5 hari dan sesekali dikocok. Setelah 5 hari maserat disaring dengan kain flanel, ampas dicuci dengan 2,5 bagian pelarut. Ampas kemudian dimaserasi lagi dengan jumlah pelarut yang sama selama 5 hari. Sari

yang diperoleh disatukan lalu dipekatkan dalam pembuatan sediaan uji ekstrak daun teh.



Gambar 3. Pembuatan ekstrak uji etanol 70 % ekstrak daun teh

6. Uji bebas alkohol

Masing-masing ekstrak etanol daun teh diuji alkoholnya dengan melakukan uji esterifikasi alkohol. Masing-masing ekstrak alkohol tersebut ditambahkan asam sulfat pekat dan asam asetat kemudian dipanaskan. Adanya sisa alkohol ditandai dengan aroma ester yang khas.

7. Identifikasi kualitatif ekstrak teh hijau

7.1 Pemeriksaan organoleptik. Pemeriksaan ini meliputi bentuk, warna menggunakan mata dan bau menggunakan hidung, rasa.

7.2 Identifikasi flavonoid. Masing-masing serbuk daun teh hijau ditambahkan serbuk magnesium (Mg), alkohol asam klorida (1:1) dan amil alkohol dikocok kuat dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amin alkohol (Sarker 2006).

7.3 Identifikasi alkaloid. Masing-masing serbuk daun teh hijau ditambahkan reagen Dragendoff akan berbentuk kekeruhan atau endapan coklat.

Penambahan reagen Bouchardat akan terbentuk endapan coklat. Kemudian penambahan reagen Mayer akan terbentuk endapan putih (Depkes 1995).

7.4 Identifikasi saponin. Sebanyak 0,5 g serbuk daun teh hijau dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan air panas dinginkan kemudian dikocok selama 10 detik akan terbentuk buih stabil selama kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, dengan penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Depkes 1995).

7.5 Identifikasi tanin. Identifikasi tanin. Serbuk simplisia dan ekstrak masing - masing ditambah dengan 10 mL air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan saring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B. Sebanyak 5 mL larutan B ditambah pereaksi besi (III) klorida 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman (Robinson 1995).

8. Penentuan Dosis

8.1 Dosis asam valproat. Dosis yang digunakan dalam penelitian mencit dosis ini mengacu pada orientasi yang telah dilakukan dimana dosis asam valproat yang dapat menyebabkan autisme adalah 400 mg/kg. Jadi untuk bobot 20 gram mencit dosisnya adalah 8 mg/20g BB mencit.

8.2 Dosis ekstrak etanol daun teh hijau. Dosis sediaan diberikan berdasarkan dosis pada penelitian Banji *et al* (2011) dimana dosis ekstrak teh hijau yang mengandung flavonoid yaitu dosis 150 mg/kg, 300 mg/kg dan 450 mg/kg dapat mencegah autisme pada mencit. Dosis ekstrak etanol daun teh hijau yang juga mengandung flavonoid dibuat tiga variasi dosis ekstrak etanol yaitu dosis 150 mg/kg, dosis 300 mg/kg dan dosis 450 mg/kg.

9. Pembuatan Larutan Uji

9.1. Larutan Fisiologis 0,5%. Larutan fisiologis NaCl 0,5 % adalah larutan yang digunakan sebagai pelarut, dibuat dengan cara menimbang NaCl sebanyak 500 mg, dimasukan dalam erlenmeyer yang telah dikalibrasi 100ml.

9.2. Larutan Asam Valproat. Pembuatan larutan asam valproat 8 mg dengan cara melarutkan asam valproat 40 mg dalam larutan saline sebanyak 100 ml.

10. Pengelompokan hewan uji

Setelah hari ke 14 mencit diberikan asam valproat secara subcutan (*single dose*). Dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun teh hijau sesuai dengan waktu pengujian. Mencit dibagi dengan 5 kelompok

- Kelompok I = Kontrol normal (hanya diberi makan dan minum)
- Kelompok II = Kontrol sakit (Asam valproate 8 mg/20g BB)
- Kelompok III = Ekstrak etanol 70% daun teh hijau dosis 150 mg/kg
- Kelompok IV = Ekstrak etanol 70% daun teh hijau dosis 300 mg/kg
- Kelompok IV = Ekstrak etanol 70% daun teh hijau dosis 450 mg/kg

11. Prosedur Uji Perilaku Berulang

Pada pengamatan ini dilakukan dengan pengamatan perilaku berulang (*Repetitive Behaviors*)

11.1 Murble burying. Murble burying dilakukan dengan cara mengisi kandang menggunakan sekam bersih dengan tinggi 3 cm. Mencit kemudian dimasukan ke dalam kandang untuk habituasi selama 10 menit. Setelah habituasi, mencit dipindahkan dari kandang dan selanjutnya kandang tersebut dimasukan kelereng sebanyak 20 buah (diameter 15 mm) yang disusun 4x5. Mencit kemudian dimasukan ke kandang uji yang berisi kelereng selama 20 menit. Parameter yang digunakan dalam metode ini adalah jumlah kelereng yang dikuburkan (>50% kelereng ditutupi oleh sekam) (Kim *et al* 2014).

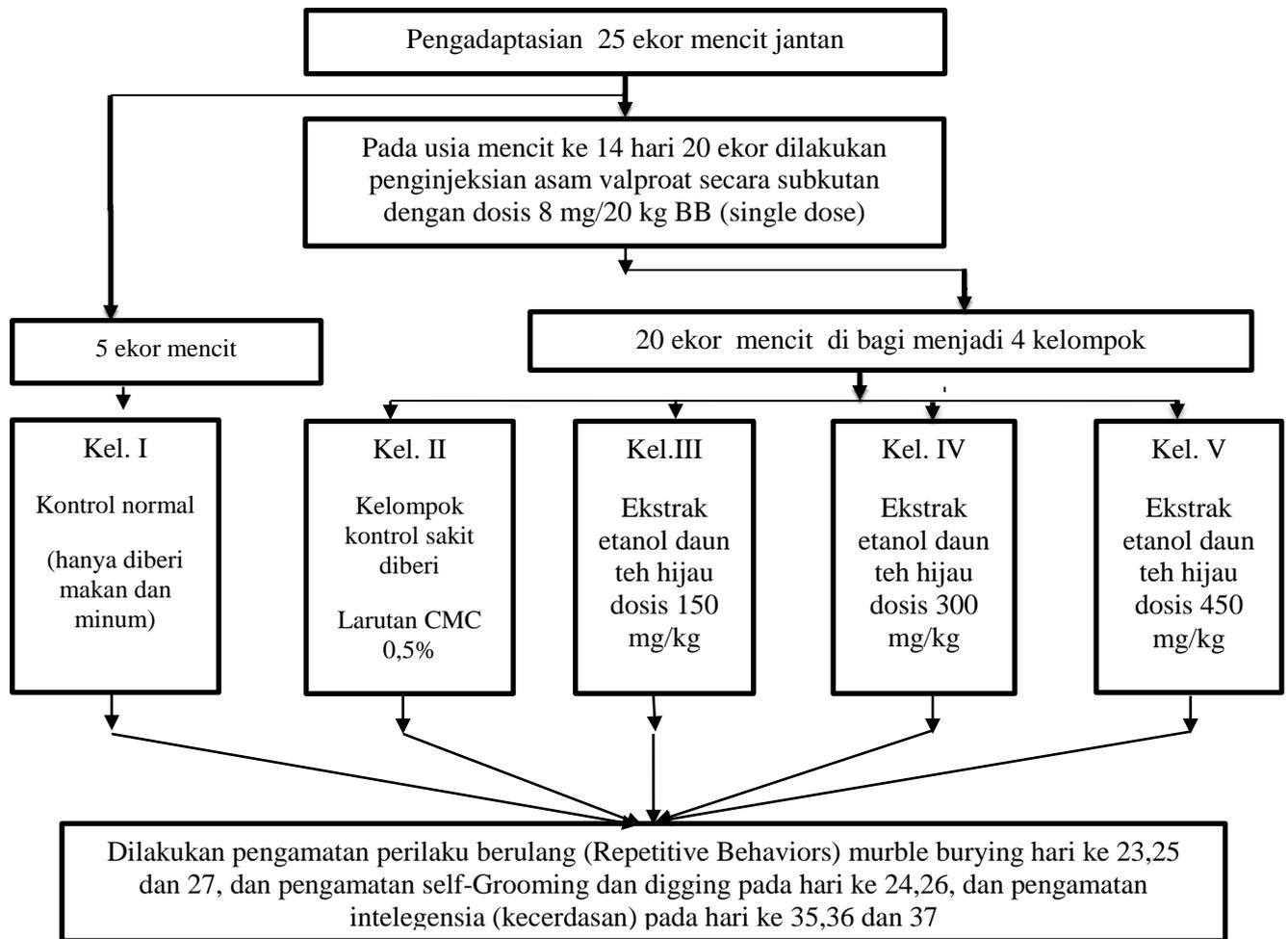
11.2 Self-grooming dan Digging. Uji dilakukan dengan memasukan mencit ke dalam kandang yang diisi sekam bersih dan dibiasakan selama 10 menit, selanjutnya waktu akumulatif *grooming* dan *digging* diamati secara bersamaan pada 10 menit selanjutnya. *Grooming* yang dicatat adalah *grooming* yang dilakukan pada semua bagian tubuh (Kim *et al* 2014).

11.3 Pengamatan Intelegensia (Kecerdasan). Labirin tersusun dalam bentuk Y, sudut antara kaki sama persis (120°). Pengujian dibagi menjadi 3 tahap yaitu tahap adaptasi, tahap belajar dan tahap pengujian. Waktu yang diperlukan untuk dapat mengambil makanan tersebut dicatat dengan stop watch selama 5 menit. Dilakukan 3 kali berturut – turut dan diulang setiap hari selama 3 hari (Fitrianingsih 2013).

E. Analisis Statistik

Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (Saphiro Wilk). Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (One Way ANOVA) untuk mengetahui perbedaan yang nyata diantara perlakuan. Jika hasil uji One Way ANOVA dan uji Lavene Statistic menunjukkan hasil normal ($> 0,05$), selanjutnya dilakukan uji Post Hoc untuk melihat penurunan kadar malondialdehid yang efektif diantara kelompok perlakuan. Namun, jika hasilnya tidak normal ($p < 0,05$), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji Mann-Whitney.

F. Skema Penelitian



Gambar 4. Skema prosedur pengujian

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Teh Hijau

1. Identifikasi tanaman teh (*Camelia sinensis* (L.))

Determinasi tanaman daun teh hijau (*Camelia sinensis* (L.)) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan diteliti sehingga menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan kemungkinan tercampurnya dengan tanaman yang lain (Depkes 1985). Hasil determinasi menunjukkan bahwa ciri – ciri morfologi tanaman teh hijau yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan literatur. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman teh hijau. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Penetapan kadar kelembapan serbuk daun teh hijau

Serbuk teh hijau ditimbang sebanyak 2 gram kemudian diukur kandungan lembabnya dengan menggunakan *Moisture Balance*. Kandungan lembab simplisia tidak boleh lebih dari 10% untuk menghindari kontaminasi jamur atau bakteri. Hal ini bertujuan pula untuk meniadakan reaksi enzimatik yang mengakibatkan kualitas bahan menurun (Anonim 1985).

Hasil penyusutan serbuk daun teh hijau diperoleh :

Tabel 1. Hasil Penetapan serbuk teh hijau

| No | Bobot serbuk (gram) | Bobot akhir (gram) | Kadar lembab (%) |
|-------------|---------------------|--------------------|------------------|
| 1 | 2 | 1,80 | 5,5 |
| 2 | 2 | 1,83 | 5,0 |
| 3 | 2 | 1,80 | 5,5 |
| Rata – rata | | 1,81 | 5,33 |

Perhitungan dapat dilihat di lampiran 2.

3. Pembuatan ekstrak etanol daun teh hijau

Data hasil pembuatan ekstrak etanol daun teh hijau dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan rendemen ekstrak etanol daun teh hijau

| Serbuk (gram) | Ekstrak kental (gram) | Rendemen (%) |
|---------------|-----------------------|--------------|
| 1000 | 103,07 | 10,31% |

Rendemen merupakan persentase perbandingan berat ekstrak yang diperoleh setelah pemekatan dengan berat simplisia awal. Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui dari berat serbuk 1000 gram setelah dimaserasi, dievaporasi dan setelah dilakukan penguapan diperoleh ekstrak kental gram, sehingga rendemen yang dihasilkan adalah 10,31%.

4. Tes bebas etanol ekstrak daun teh hijau

Ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan tes bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi alkohol. Prinsip dari uji ini adalah suatu asam karboksilat yang direaksikan dengan senyawa alkohol dalam suasana asam, akan menghasilkan suatu ester dan H₂O yang terpisah. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun teh hijau dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun teh hijau

| Prosedur | Hasil | Pustaka |
|--|---|---|
| Ekstrak + H ₂ SO _{4conc} +CH ₃ COOH, dipanaskan | Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol | Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol |

Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga dapat menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel. Hasil tes bebas etanol pada tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak daun teh hijau tersebut sudah bebas dari pelarutnya etanol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun teh hijau

Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan pada serbuk dan ekstrak daun teh hijau. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun teh hijau

| Senyawa | Prosedur | Serbuk | Hasil ekstrak | Pustaka (DepKes 1993) | Ket |
|-----------|--|---|---|--|-----------------------------|
| Tanin | 5 ml sampel ditambah etanol ditambah besi (III) klorida | Terbentuk warna biru kehitaman | Terbentuk warna hijau kehitaman | Warna larutan akan berubah menjadi biru kehitama | (+) |
| Saponin | 5 mg sampel + aquadest panas, kocok kuat | Terbentuk buih | Terbentuk buih | Adanya yang stabil | buih (+) |
| Alkaloid | sampel + 5 ml aquadest + HCl 2M hingga saring. Filtrat + 1 ml pereaksi Dragendroff | Endapan merah kecoklatan | Endapan merah kecoklatan | Bewarna atau endapan kemerahan | jingga (+) adanya jingga |
| Flavonoid | Sampel + 5 ml aquadest + 0,1 mg serbuk ditambah ml larutan alkohol asam klorida pekat amil alkohol | Warna merah jingga pada lapisan alkohol | Merah pada jingga pada lapisan amil alkohol | Merah atau jingga pada lapisan alkohol | jingga (+) kuning pada amil |

Keterangan :
 + : ada senyawa
 - : tidak ada senyawa

B. Hasil Uji Autisme

Hewan uji pada penelitian ini yaitu mencit (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster*, dengan berat 10-20 gram sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok. Hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu selama ± 3 hari agar terhindar dari stres.

Metode uji autisme yang digunakan adalah induksi asam valproat. Valproat merupakan obat yang sering digunakan untuk terapi epilepsi dan gangguan bipolar. Penelitian menunjukkan bahwa anak-anak yang lahir dari ibu yang diterapi valproat untuk penyakit epilepsi mempunyai risiko yang lebih tinggi munculnya gangguan perkembangan neuron, seperti autisme, gangguan pengenalan lingkungan, gangguan bahasa dan skor IQ yang rendah. Inhibisi valproat terhadap HDAC yang berperan dalam ekspresi gen, ataupun stress oksidatif yang diinduksi oleh valproat dan terfokus pada otak fetus diperkirakan merupakan mekanisme valproat menimbulkan gejala autisme pada anak. (Fauziyah *et al* 2016). Asam Valproat diberikan secara subkutan dengan pemberian dosis sebesar 400 mg/kg. Hewan uji dapat dikatakan autisme apabila memiliki tanda-tanda gangguan dalam interaksi sosial, berperilaku berulang, kurang fokus (Kim *et al* 2014).

Pemeriksaan gejala autisme pada penelitian ini meliputi gejala presentase terjadinya perilaku yang berulang (*repetitive behavior*) dan Y-Maze data skor yang didapatkan dianalisa menggunakan *SPSS statistika17*, Data dilihat terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan kolmogorv smirnov, selanjutnya dilihat homogenitasnya menggunakan *one way Anova* dan dilanjutkan dengan uji perbandingan jika data homogen signifikansi lebih dari 0,05 menggunakan uji *tukey* jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 menggunakan uji *tamhane*.

1. Pengamatan Perilaku Berulang (*Repetitive Behaviors*)

1.1 Murble Burying. Pengamatan perilaku berulang melalui uji *murble burying* dilakukan menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan (Thomas *et al* 2009) namun dengan sedikit modifikasi (Kim *et al* 2014). Dengan menghitung skor kelereng yang berhasil dikuburkan, semakin banyak kelereng yang dikubur didalam sekam maka dapat dikatakan mencit mempunyai gejala autisme, dan sebaliknya jika skor atau kelereng yang dimasukkan kedalam sekam sedikit atau <50% kelereng maka mencit dapat dikatakan normal. Skor yang didapatkan diolah dan didapatkan hasil rata-rata dan SD (*standar deviasi*). Hasil uji perbandingan antar hari dalam satu kelompok dan perbandingan antar kelompok dalam satu hari dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata murble burying

| Kelompok uji | Rata-rata murble burying \pm SD | | |
|--------------|-----------------------------------|------------------|--------------------------------|
| | Umur 23 \pm SD | Umur 25 \pm SD | Umur 27 \pm SD |
| I | 8,60 \pm 1,4 | 9,20 \pm 0,84 | 6,40 \pm 1,7 ^b |
| II | 16,60 \pm 1,4 | 17,00 \pm 0,71 | 16,80 \pm 1,4 ^a |
| III | 16,40 \pm 1,82 | 13,40 \pm 1,14 | 12,00 \pm 2,24 ^{ab} |
| IV | 9,40 \pm 1,14 | 9,80 \pm 2,39 | 7,80 \pm 0,84 ^b |
| V | 9,00 \pm 1,00 | 9,20 \pm 1,30 | 7,40 \pm 1,14 ^b |

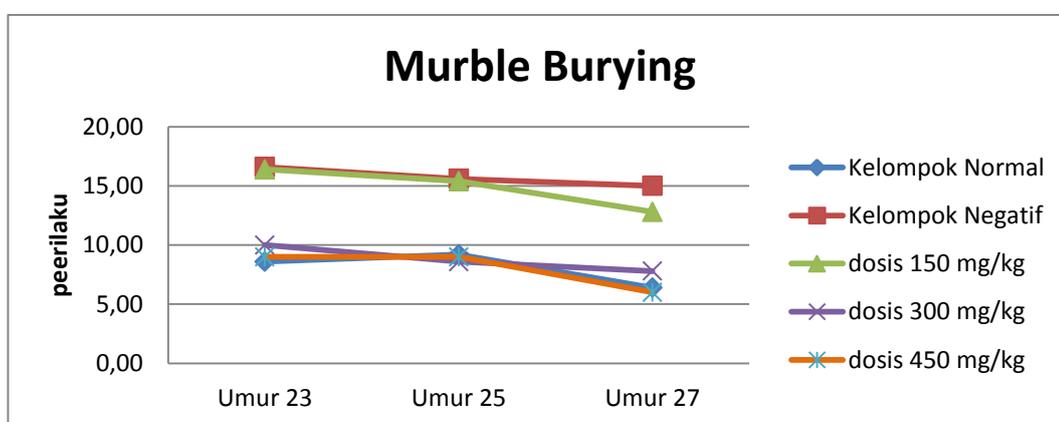
Keterangan :

- I : kelompok kontrol normal
- II : kelompok kontrol negatif
- III : kelompok dosis 150 mg/kg
- IV : kelompok dosis II 300 mg/kg
- V : kelompok dosis III 450 mg/kg

Berbeda signifikan dengan :

- a : berbeda signifikan terhadap kontrol normal ($p < 0,05$)
- b : berbeda signifikan terhadap kontrol negatif ($p < 0,05$)

Jika nilai $p < 0,05$ dianggap berbeda signifikan secara statistik. Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui jika pada kontrol kelompok normal tidak terjadi perubahan yang berbeda karena tidak diberikan perlakuan khusus, hanya diberikan makan dan aquadest pada hari ke 14 sampai hari ke-35. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif, diberikan induksi Asam valproat pada hari ke-14, kemudian diberikan CMC 0,5% dan diberi makan dan minum. Pada dosis I 150 mg/kg, dosis IV 300 mg/kg dan kelompok dosis V 450 mg/kg ekstrak teh hijau sudah menunjukkan perbedaan dengan kelompok negatif.

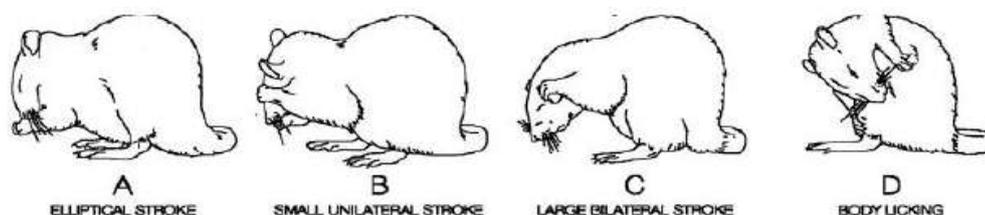


Gambar 5. Murble Burying

Pemberian ekstrak daun teh hijau pada dosis 300 mg/kg dan 450 mg/kg telah berefek dan semakin memperbaiki tingkah laku yang diamati dengan metode *Murble Burying* dari hari 23, hari 25 dan hari 27 dari hari ke hari semakin membaik ditunjukkan pada tabel 5. Kelompok IV dan V tidak menunjukkan berbeda bermakna dengan kelompok normal. Didapatkan skor yang semakin menurun, dengan adanya variasi dosis, semakin besar dosis maka akan memperbaiki gejala pada gangguan autisme yang diinduksi asam valproat. Asam valproat menyebabkan kerusakan pada neuro anatomi otak yang bisa mengubah fungsi tambahan dari otak. Kerusakan anatomi pada otak berpengaruh terhadap gangguan sensorik dan motorik pada penderita autisme. Teh hijau dapat digunakan sebagai alternatif pencegahan progres gangguan autisme, karena didalam teh hijau mempunyai banyak flavonoid, yang kaya polifenol yang berperan sebagai antioksidan kuat yang mampu menghambat proses oksidasi. Mekanisme antioksidan dengan menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi

kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga reaksi akan terhambat. Penetralkan radikal bebas oleh antioksidan ini menyebabkan penghambatan progres akibat asam valproat yang meningkatkan stres oksidatif yang terfokus pada otak. Efek dari pemberian asam valproat yang menyebabkan peningkatan stres oksidatif harus dihambat dengan pemberian antioksidan dari luar, salah satu tanaman yang kaya akan antioksidan adalah teh hijau. Kelompok dosis III 150 mg/kg tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok negatif, sedangkan pada kelompok IV dosis 300 mg/kg dan kelompok V dosis 450 mg/kg mempunyai perbedaan bermakna dengan kelompok negatif. Didapatkan dosis efektif dari ke tiga variasi dosis adalah 300 mg/kg.

1.2 Self-grooming dan Digging. Disamping pengamatan melalui uji *murble burying*, uji *grooming* dan *digging* juga dapat mendukung pengamatan perilaku berulang pada mencit (Deacon 2006). Uji dilakukan dengan sedikit modifikasi (Kim *et al* 2014) yaitu dengan memasukkan mencit ke dalam kandang yang diisi sekam bersih dan dibiasakan selama 10 menit, selanjutnya waktu akumulatif *grooming* yang dicatat adalah *grooming* yang dilakukan pada semua bagian tubuh (Silverman *et al* 2010).



Gambar 6. Grooming dan Digging

Jika mencit melakukan 4 gerakan seperti pada gambar diatas skor *grooming* dan *digging* maka akan mendapatkan nilai satu, namun jika hanya melakukan satu atau dua gerakan maka tidak dianggap sebagai skor. Semakin banyak skornya maka mencit dapat dikatakan autisme.

Tabel 6. Rata-rata grooming dan Digging

| Kelompok uji | Rata-rata grooming dan Digging \pm SD | | |
|--------------|---|------------------|-------------------------------|
| | Umur 24 \pm SD | Umur 26 \pm SD | Umur 28 \pm SD |
| I | 3,40 \pm 1,4 | 5,20 \pm 1,30 | 3,80 \pm 1,79 ^b |
| II | 9,40 \pm 1,67 | 9,40 \pm 1,62 | 7,80 \pm 0,84 ^a |
| III | 8,20 \pm 3,19 | 7,40 \pm 3,05 | 7,40 \pm 3,97 ^{ab} |
| IV | 4,80 \pm 2,39 | 4,00 \pm 2,00 | 5,00 \pm 2,00 ^b |
| V | 3,80 \pm 1,48 | 5,00 \pm 2,00 | 4,00 \pm 1,87 ^b |

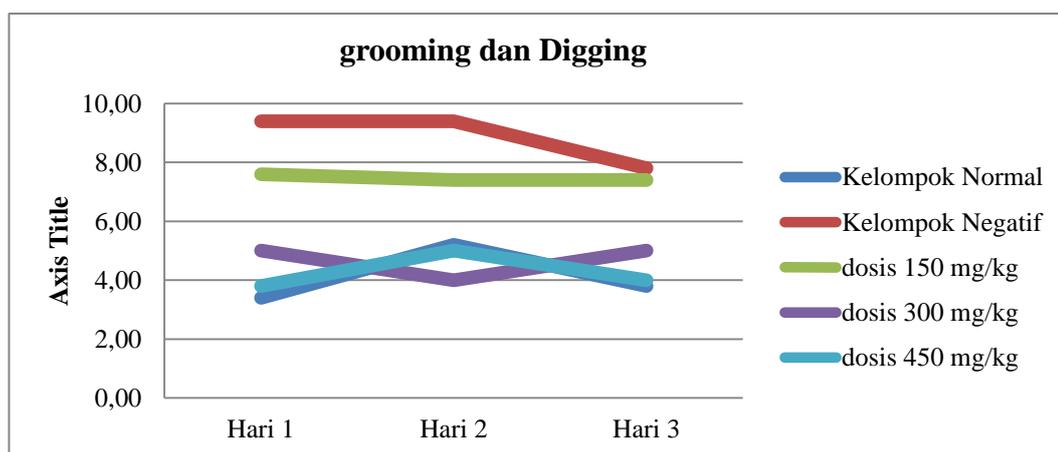
Keterangan :

- I : kelompok kontrol normal
- II : kelompok kontrol negatif
- III : kelompok dosis 150 mg/kg
- IV : kelompok dosis II 300 mg/kg
- V : kelompok dosis III 450 mg/kg

Berbeda signifikan dengan :

- a : berbeda signifikan terhadap kontrol normal ($p < 0,05$)
- b : berbeda signifikan terhadap kontrol negatif ($p < 0,05$)

Secara statistik jika nilai $p < 0,05$ dianggap berbeda signifikan. Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui jika pada kontrol kelompok normal tidak terjadi perubahan yang berbeda karena tidak diberikan perlakuan khusus, hanya diberikan makan dan aquadest pada hari ke 14 sampai hari ke-35. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif, diberikan induksi asam valproat pada hari ke-14, kemudian diberikan CMC 0,5% dan diberi makan dan minum. Pada dosis IV 300mg/kg BB dan kelompok dosis V 450 mg/kg BB tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok normal. pada kelompok IV dan V dosis ekstrak teh hijau sudah menunjukkan perbedaan yang nyata dengan kelompok negatif. Penurunan prosentase skor grooming dan digging yang disebabkan oleh induksi asam valproat yang ditandai dengan perbaikan gejala autisme akibat induksi asam valproat.



Gambar 7. Grooming dan Digging

Pada pengujian dengan parameter *grooming* dan *digging* didapatkan hasil, pada kelompok dosis 150 mg/kg tidak mempunyai perbedaan bermakna dengan kelompok negatif, namun pada kelompok dosis 300 mg/kg dan 450 mg/kg terjadi perubahan tingkah laku yang semakin membaik dibandingkan dengan

kelompok kontrol negatif, dapat dilihat dari hasil pada tabel 6. Pada kelompok IV dan V menunjukkan progres dengan penurunan intensitas atau skor mencit dalam *grooming* dan *digging*. Skor yang diperoleh mencit berdasarkan kelompok uji, pada mencit kelompok negatif skor *grooming* dan *digging* akan semakin banyak dan pada kelompok normal skor untuk gerakan *grooming* dan *digging* akan menurun. Pada kelompok negatif akan menunjukkan peningkatan skor *grooming* dan *digging* karena adanya kerusakan anatomi pada otak dan stres oksidatif berpengaruh terhadap gangguan sensorik dan motorik pada penderita autisme, yang menyebabkan penderita tidak dapat mengontrol gerakan mengakibatkan terjadinya gerakan yang tak terkendali. Salah satu tanaman yang dapat menetralkan stres oksidatif adalah teh hijau. Teh dapat digunakan sebagai alternatif pencegahan progres gangguan autisme, karena didalam teh hijau mempunyai banyak flavonoid, yang kaya polifenol yang berperan sebagai antioksidan kuat yang mampu menghambat proses oksidasi. Mekanisme antioksidan dengan menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga reaksi akan terhambat. Penetralkan radikal bebas oleh antioksidan ini menyebabkan penghambatan progres akibat asam valproat yang meningkatkan stres oksidatif yang terfokus pada otak. stres oksidatif harus dihambat dengan pemberian antioksidan dari luar, salah satu tanaman yang kaya akan antioksidan adalah teh hijau. Gejala autisme dengan mengendus, memutar dan mengubur akan semakin menurun dengan pemberian dosis yang ditingkatkan. Pada dosis 300 mg/kg dan pada dosis 450 mg/kg terjadi perbaikan tingkah laku yang ditandai dengan menurunnya skor pada uji *grooming* dan *digging*. Sehingga diperoleh dosis efektif daun teh hijau 300 mg/kg.

2. Pengamatan Intelelegensia (Labirin Y-Maze)

Labirin tersusun dalam bentuk Y, sudut antara kaki sama persis (120°). Pengujian dibagi menjadi 3 tahap yaitu tahap adaptasi, tahap belajar dan tahap pengujian. Waktu yang diperlukan untuk dapat mengambil makanan tersebut dicatat dengan stop watch. Dilakukan 3 kali berturut – turut dan diulang setiap hari selama 3 hari (Fitrianingsih 2013). Pada pengujian labirin y-maze ini

semakin besar nilai triplet z maka mencit semakin normal, karena pada mencit yang autisme lebih banyak diam dan tidak aktif.

Pengujian dengan y-maze dihitung ketepatan tiap gerak pada lengan labirin dengan rumus (Simplice *et al* 2014) :

$$\text{Presentase ketepatan} = \frac{\text{triplet set berturut-turut}}{\text{jumlah lengan entri}-2} \times 100\%$$

Tabel 7. Rata-rata y-maze

| Kelompok uji | Rata-rata y-maze ±SD | | |
|--------------|----------------------|-------------|--------------------------|
| | Umur 35±SD | Umur 36 ±SD | Umur 37±SD |
| I | 61,35±4,02 | 61,76±3,52 | 63,39±7,81 ^b |
| II | 41,65±9,86 | 39,82±4,32 | 33,83±19,03 ^a |
| III | 40,05±5,58 | 53,40±9,73 | 60,59±12,65 ^b |
| IV | 56,47±9,33 | 56,01±11,50 | 61,20±7,00 ^b |
| V | 59,81±11,50 | 57,63±11,12 | 62,76±22,28 ^b |

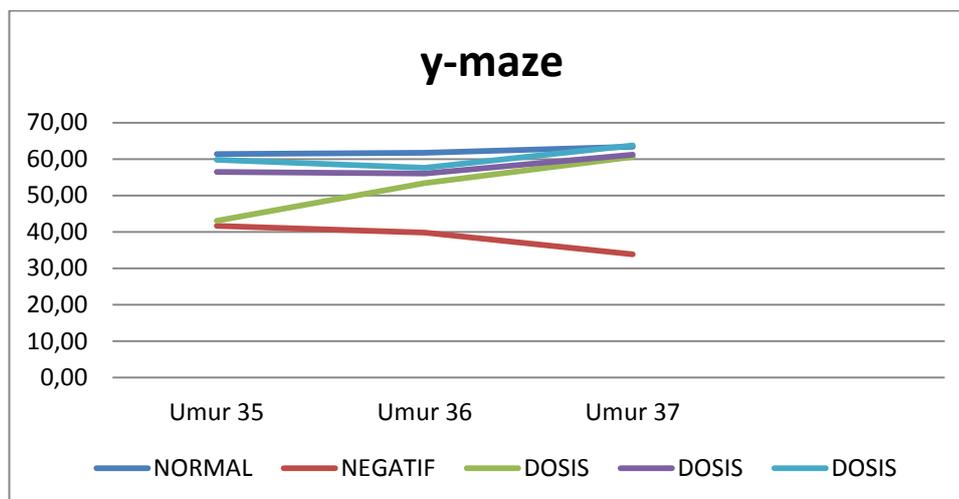
Keterangan :

- I : kelompok kontrol normal
- II : kelompok kontrol negatif
- III : kelompok dosis 150 mg/kg
- IV : kelompok dosis II 300 mg/kg
- V : kelompok dosis III 450 mg/kg

Berbeda signifikan dengan :

- a : berbeda signifikan terhadap kontrol normal ($p < 0,05$)
- b : berbeda signifikan terhadap kontrol negatif ($p < 0,05$)

Pada tabel diatas data skor *Y-Maze* yang didapatkan dianalisa menggunakan *SPSS statistika17* dan diperoleh hasil signifikasi ($P > 0,102$). Pada dosis IV 300 mg/kg BB dan kelompok dosis V 450 mg/kg BB tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok negatif. Pada kelompok IV dan V dosis ekstrak teh hijau sudah menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok negatif. Penurunan prosentase kerusakan yang disebabkan oleh induksi asam valproat.



Gambar 8. Y-Maze

Pada pengujian dengan parameter uji intelegensia (y-maze) didapatkan hasil, pada kelompok dosis 150 mg/kg terjadi perubahan tingkah laku, tidak terjadi perubahan bermakna. Dosis 300 mg/kg dan 450 mg/kg terjadi perubahan tingkah laku yang semakin membaik, dengan adanya perbedaan bermakna dengan kelompok negatif dapat dilihat pada tabel 7. Penginduksian asam valproat menyebabkan kerusakan pada neuro anatomi otak yang menyebabkan kerusakan pada memori sepasial kognitif penderita autisme. Pada tanaman teh hijau terdapat kandungan Ephigallocatechin-3-gallate (EGCG) pada teh hijau mudah melewati sawar darah otak dan mencapai parenkim pada otak. Ephigalaktekin galat dapat menurangi CA^{2+} , mengurangi kerusakan mitokondria sehingga mencegah kalsium yang berlebih dan melindungi neuron dari kerusakan. Dari mekanisme diatas maka kandungan teh hijau dapat digunakan sebagai pencegahan progres akibat pnginduksian asam valproat. Dan menurunkan kerepatan mencit autisme dalam melewati tiap lengan y-maze.

Pemaparan hasil uji parametik autisme dengan menggunakan *murble buring* dan *grooming* dan *digging* serta labirin *y-maze*, ekstrak daun teh hijau dapat menghambat progres autisme. Pada dosis 300 mg/kg dan 450 mg telah memberikan efek dengan menghambat progres autisme. Pada mencit autisme yang diinduksi asam valproat. Dari pemaparan hasil diatas ekstrak daun teh hijau

dapat menghambat progres autisme dengan dosis efektif dari ekstrak etanol daun teh hijau adalah 300 mg/kg.

Teh hijau mempunyai senyawa epigallocatechin-3-gallate (EGCG) yang merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang terdapat di dalam daun teh dapat memperbaiki morfogenesis otak dan dapat meningkatkan fungsi kognitif (Yanyan *et al* 2012). Flavonoid dalam polifenol adalah antioksidan sangat kuat yang mampu menetralkan radikal bebas. Sebagian bukti menunjukkan aktifitas neuroprotektif antioksidan telah ter uji secara *in vivo*. Karena sensitifitas sel-sel saraf pusat (SSP) yang tinggi terhadap stress oksidatif , pemberian antioksidan sangat penting untuk optimalisasi kelangsungan hidup sel serta pencegahan pada penyakit neurodegeneratif. Karena sifat polifenol mampu melewati sawar darah otak dan mempunyai efek dalam pencegahan penyakit neurodegeneratif, sehingga senyawa polifenol dapat mencegah efek dari asam valproat dengan membangkitkan neuronal pelindung pada serebelum (Weinreb *et al* 2000). Penggunaan teh hijau yang kaya akan antioksidan dapat digunakan sebagai alternatif dalam memperbaiki efek samping atau gejala yang ditimbulkan dari penggunaan asam valproat. Teh hijau adalah penetral radikal bebas atau stres oksidatif, dan dapat memperbaiki koordinasi motor, kognitif, kecemasan dan memberikan efek perlindungan pada neuronal (Banji *et al* 2016).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat dibuat kesimpulan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol daun teh hijau (*camelia sinensis* (L.)) yang diberikan dapat menghambat proses autisme yang disebabkan paparan asam valproat.

Kedua, ekstrak etanol daun teh hijau (*camelia sinensis* (L.)) dosis 300 mg/kg efektif dapat menghambat progres gangguan autisme yang disebabkan paparan asam valproat yang berbeda bermakna dengan kelompok negatif.

B. Saran

Dalam penelitian ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

Pertama, dari hasil yang telah diperoleh maka disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak daun teh hijau (*camelia sinensis* (L.)) menggunakan metode fraksinasi untuk mengetahui secara spesifik fraksi.

Kedua, perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan tanaman yang berbeda.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode uji yang berbeda jurnal Banji 2016.

Keempat, metode y-maze tidak sensitif jika digunakan sebagai parameter uji autisme.

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 1979. *Farmakope Indonesia. Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 57, 61, 474, dan 534.
- [Anonim]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia. Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 28-32.
- [Anonim]. 1986. *Sediaan Gelenik. Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Anonim]. 2000. *Informasi Obat Nasional Indonesia*. Jakarta: Dertemen kesehatan Republik Indonesia.
- Afriza Dhona, the Effect of Mercury vapor and the Role of Green tea Extract on Brain cells. *Journal of Dentistry Indonesia 2013, Vol. 20, No. 2, 39-45*
- Altevogt, B. M., Hanson, S. L., Leshner, A(2008). Autism and The Environment: Challenges and Opportunities for Research. *Pediatrics*, Vol. 121, No.6, pp.1225-1229
- Ansel CH. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Penerjemah; Farida Ibrahim,editor. edisi IV. Jakarta: UI Press
- Banji David et al (2011). Amelioration of behavioral aberrations and oxidative markers by green tea extract in valproate induced autism in animals, *BRAINRESEARCH* 1410, 141-151.
- Bromley, Rebecca L, George E M, Maria B, Chirtopher C, Jill C S (2014). The prevalence of neurodevelopmental disorders in children prenatally exposed to antiepileptic drug. *J neurol Neurosurg Psychiatry*.
- Carmen C, Reyes A. R, Gimenez, 2006. *Beneficial of Green Tea* . *Journal of American College of Nutritin* 25(2). Pp 78-89.
- Chang, J., Kucon, C., Kim, J (2014). Influence of Lead on Repetitive Behavior and Dopamine Metabolism in a Mouse Model of Iron Overload. *Toxicol. Res.* Vol. 30, No. 4, pp.267-276.
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 3-5.
- [Depkes RI]. 1995. *Farmakope Indonesia. Edisi ke-4*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I. Jilid 2*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [Depkes RI]. 2002. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dalimartha S., 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 1, Trubus Agriwidya, 50-56.
- Departemen Kelautan & Perikanan 2002. Direktorat Pemasaran Hasil Laut dan Ikan. Jakarta.
- Fauziah Lubis, Jhons Fatriyadi (2016). Paparan Prenatal Valproat dan *Autism Spectrum Disorder* (ASD) pada Anak. Lampung. Fakultas Kedokteran, Bagian Parasitologi Universitas Lampung
- Fitrianingsih, S.P (2013). Uji Daya Ingat Anak Tikus dari Induk Tikus Galur Wistar yang Diberi Kombinasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda dan Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak dengan Metode Labyrin Y dan Morris Water Maze [skripsi] Bandung: Fakultas Farmasi, Universitas Islam Bandung
- Harbone JB. 1987. *Metode fitokimia*. Penerjemah ; padmawinata K, Soediro I, Bandung : ITB Press. hlm 102-104.
- Hernani, Raharjo M. 2005. *Tanaman berkhasiat Antioksidan*. Jakarta : penebar swadya. hlm 46.
- Karyn, Sereussi. 2004. *Untuk segalanya: perjuangan Ibunda seorang anak autistik, Mengungkap Misteri dan Gangguan Perkembangan Perpasif*. Penerjemah Lala Herawati D, Bandung: Qonita.
- Kim , J. W., Seung , H., Kwon, K. J., Ko, M. J., Lee, E. J., Oh, H. A., Choi, C.S., Kim, K. C., Gonzales, E. L., You. J. S., Choi, D. H., Lee, J., Han, S. H., Yang, S. M., Cheong, J.H., Shin, C. Y., Bahn, G.H (2014) Subchronic Treatment of Donepezil Rescues Impaired Social, Hyperactive, and Stereotypic Behavior in Valproic Acid-Induced Animal Model of Autism. *Plos One*. Vol.9(8) pp: 1-12.
- Kim H, Lim C.S., Kaang, B.K. (2016). Neuronal Mechanisms And Circuits Underlying Repetive Behaviors In Mouse model Of Autisme Spectrum Disorder. *Behav Brain Funct* 12:3, pp 1-13.
- Kusumaningrum, D. 2008. Pemetaan Karakteristik Komponen Polifenol Untuk Mencegah Kerusakannya pada Minuman Teh Ready to Drink (RTD). Skripsi. IPB. Bogor.
- MacLeod, L.S., Kagon, C.S., Collin, C.A., Berry-Kravis, E., Massier, C., Gandhi, R. A (2010). Comparative Study of The Performance of Individuals with Fragile X Syndrome and *Fmrl*-Knocout Mice on Hebb-Williams Mazes. *Genes, Brain and Behavior* 9 pp: 53-64.

- Onibala Elfriani. M ., Anita, E. D., Lisbeth, F. J. K., Kebiasaan makan pada anak gangguan spektrum autisme *Jurnal e-Clinic (eCl)*, Volume 4, Nomor 2, Juli-Desember 2016.
- Panovska TK, Kulevanova S, Stefova. 2005. In Vitro Antioxidant Activity of Some Teucrium Species (Lamiaceae). *Acta Pharm.* 55:207-214.
- Panuju, D. T. 2008. Teh dan Pengolahannya. http://www.dtp_tepadu.co.id (17 oktober 2016).
- Redha A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* Vol. 9 No. 2: 196 – 202.
- Robinson T. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi*, diterjemahkan oleh padwaminta. Bandung : penerbit ITB.
- Sastra, Gusdi. (2011). *Neurolinguistik Suatu Pengantar*. Bandung : CV. Alfabeta.
- Silverman, J.L., Tolu, S.S., Barkan, C.L., Crawley, J.N (2010a). Reperetive Self Grooming Behavior in the BTBR Mouse Model of Autism is Blocked by the mGluR5 Antagonist MPEP. *Neuropsychopharmacology*; 35, pp:976-989.
- Silverman, J.L., yang, M., Lord, C., Crawley, J.N (2010b). Behavioural phenotyping Assays for Mouse Models of Autism. *Nature Reviews Neuroscience*. Vol 11(7): 490-502.
- Simplice FH, David ET, Herve NA. 2014. *Research Article Enhancing Spatial memory : Anxiolytic and antidepesant effect of tapinanthus dodoneifolius (DC) Danser in mice*. *Neurologi Research International*
- Smith BJ, Mangkoewidjojo S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Soendari, Tjutju, 2010, *Pengembangan Perilaku Adaptif Anak Autis v Dalam Perspektif Psikologi Individual*, PLB FIP UPI, Bandung.
- Sugiharto, Eram T.P. 2009. Hubungan antara Perilaku Penggunaan Insektisida Dalam Pengendalian Hama Ulat Bawang (Spodoptera Exigua Hbn) Dengan Tingkat Keracunan Petani Penyemprot Bawang Merah Di Desa Bangsal Rejo, Kec. Wedari Jaksa, Kab. Pati. *Jurnal Kemas*, 4 (2): 132-139
- Syah, A, A, 2006, *Taklukan Penyakit Dengan teh Hijau*, Penerbit PT. Argomedia Pustaka, Jakarta.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. edisi ke-5. Yogyakarta. Universitas Gajah Mada Press. 572-574.

- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. edisi ke-5. Yogyakarta. Universitas Gajah Mada Press.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: penerbit Kanisius
- World Health Organization. 2001. *Environmental Health Criteria 118; Inorganic Mercury*. Geneva: IPCS.
- Yamanishi T. 1968. Flavor of the a compration of aroma of various type of black thea. *Agrobio chemistry*.
- Yanyan 2012. Green tea epigallocatecin-3-gallate (EGCG) promotes neural progenitor cell proliferation and sonic hedgehog pathway activation during adult hippocampal neurogenesis. *Department of Medical University*.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Hasil determinasi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Ir. Sutarni 38A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 192/UN27.9.6.4/Lab/2016
[I a] : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -
Nama Pemecan : Yeri Endrawati
NIM : 19133937A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Camellia sinensis* (L.) Kuntze
Familia : Theaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631b-632b-633a-634b-635b-636b-637b-638b-694a-695b-696e-705b-711b-712b-713b-715b-716b

-717a _____ 79. Theaceae

1a-2b _____ 1. *Camellia*

1b-2b _____ *Camellia sinensis* (L.) Kuntze

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu atau pohon kecil, menahun, tinggi 1-3 m. Akar : tunggang, kuning muda, kuat, panjang 1-3 meter. Batang : pendek, bercabang banyak, 20-30 cm dari tanah. Daun : tunggal, letaknya berseling, bentuk elips atau memanjang atau bulat telur atau lanset, panjang 4-18 cm, lebar 2-6 cm, bagian pangkal runcing atau meruncing, bagian ujung runcing atau tumpul atau membulat, tepi daun bergerigi, permukaan atas mengkilat, permukaan bawah mempunyai rambut-rambut pendek putih, pertulangan daun menyirip dengan 5-15 pasang tulang daun sekunder, warna hijau muda ketika muda dan hijau tua ketika tua, daging daun tipis dan kaku, tangkai daun pendek. Bunga : tunggal, biseksual, di ketiak daun, berdiameter 2,5-4 cm; kelopak persisten sampai dewasa, jumlah daun kelopak 5-7, hijau, daun mahkota berjumlah 7-8, kuning-putih atau putih, sangat harum; benang sari berjumlah banyak dalam heberapa lingkaran, kepala sari kuning; kepala putik bercabang 3; bakal buah 3-5 ruangan, berambut halus; bakal biji 4-6 tiap ruangan; tangkai bunga sangat pendek Buah : kapsul, berkayu, bentuk hampir bulat atau lonjong atau segitiga, terdiri dari 1-5 ruangan, kering, tidak mudah pecah. Biji : bulat, jumlah 1-3 tiap ruangan.

Surakarta, 23 Desember 2016

Mengetahui,
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suryaman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
 RSUD Dr. Moewardi

School of Medicine Sebelas Maret University
 Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret



ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 595 / VI / HREC / 2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret University Of Surakarta
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

after reviewing the proposal design, herewith to certify
 setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN TEH HIJAU (*CAMELIA SINENSIS* (L.)O.K) PADA MENCIT AUTISME YANG DIINDUKSI ASAM VALPROAT

Principal investigator : Yeni Endrawati
Peneliti Utama 19133337A

Location of research : Pusat Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan laik etik

Issued on : 21 Juni 2017

Chairman
 Ketua

 Dr. Han Wijoso, dr. Sp.F.MM †
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 3. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun teh hijau

| No | Bobot serbuk (gram) | Bobot akhir (gram) | Kadar lembab (%) |
|-------------|---------------------|--------------------|------------------|
| 1 | 2 | 1,80 | 5,5 |
| 2 | 2 | 1,83 | 5,0 |
| 3 | 2 | 1,80 | 5,5 |
| Rata – rata | | 1,81 | 5,33 |

Serbuk daun teh hijau

- Replikasi 1 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 2,5%
- Replikasi 2 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 5,5%
- Replikasi 3 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 5,5%

Maka didapatkan hasil rata-rata penetapan kadar kelembaban sebesar 5,33%

Lampiran 4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun teh hijau

| Serbuk (gram) | Ekstrak kental (gram) | Rendemen (%) |
|---------------|-----------------------|--------------|
| 1.000 | 103,7 | 10,37 |

Berat gelas + ekstrak = 304,7 gram

Berat gelas = 201 gram _

Berat ekstrak = 103,7 gram

Rendemen ekstrak = $\frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100 \%$

$$= \frac{103,07}{1000} \times 100 \%$$

$$= 10,37\%$$

Lampiran 5. Hasil perhitungan dosis

1. Induksi asam valproat

Induksi asam valproat menggunakan dosis 400 mg/kg

$$\text{Dosis asam valproat} = \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \text{berat badan mencit (gram)}$$

$$\text{Contoh: dosis} = \frac{4 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ gram} = 8 \text{ mg}$$

Dosis asam valproat yang digunakan pada mencit dengan berat badan 20 gram adalah 8 mg.

Larutan stock 1 % = 1 gram /100 ml saline = 10 mg/ml

$$\text{Volume pemberian secara S.C untuk bb 20 gram} = \frac{8 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

2. Larutan CMC

Larutan stock CMC 0,5%

$$\frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 5 \text{ mg/ml}$$

Volume pemberian untuk mencit yang memiliki berat 20 gram dengan larutan CMC 0,5% adalah x ml.

Larutan stock ekstrak 1 %

3. Larutan stock ekstrak 1 % = 1 gram /100 ml

$$= 1000 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

$$= 10 \text{ mg/ml}$$

🚦 Dosis ekstrak daun teh hijau 150 mg/kg

$$\text{Untuk tikus berat badan 20 gram bb mencit} = \frac{150 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ gram} = 3 \text{ mg}/20$$

bb mencit

$$\text{volume pemberiannya} = \frac{3 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$$

✚ Dosis ekstrak daun teh hijau 300 mg/kg

$$\text{Untuk tikus berat badan 20 gram mencit} = \frac{300 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ gram} = 6 \text{ mg/20 bb}$$

mencit

$$\text{volume pemberian nya} = \frac{6 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$$

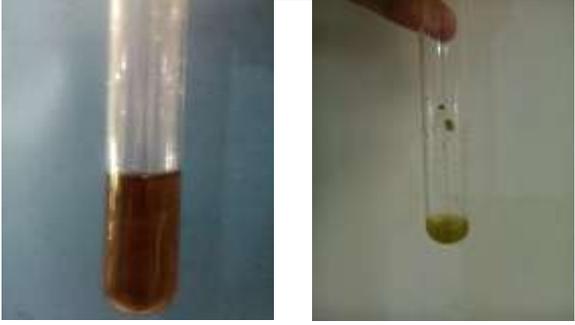
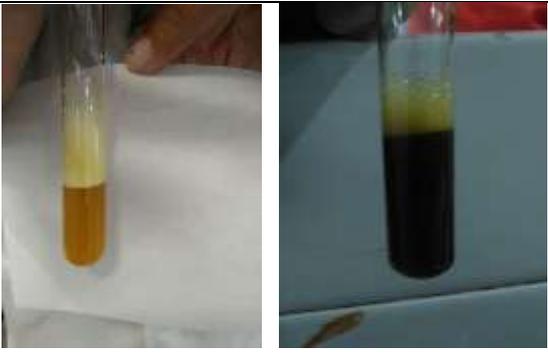
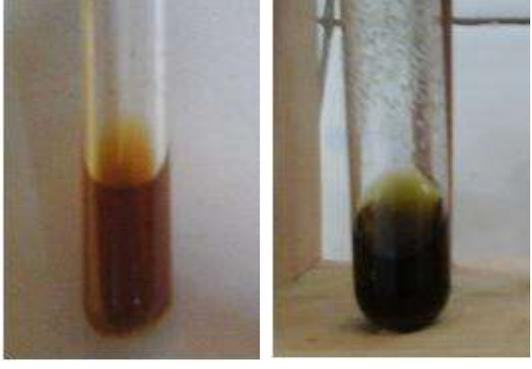
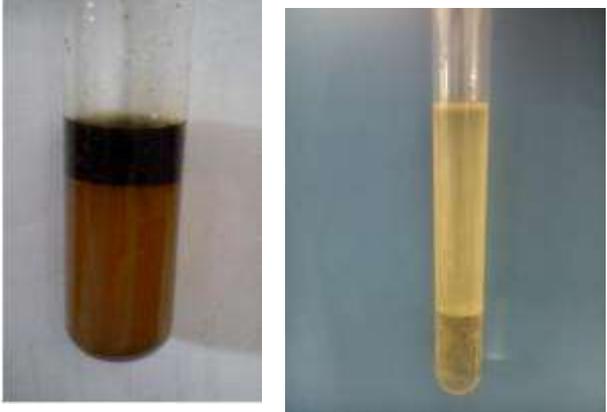
✚ Dosis ekstrak daun teh hijau 450 mg/kg

$$\text{Untuk tikus berat badan 20 gram mencit} = \frac{450 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ gram} = 9 \text{ mg/20 bb}$$

mencit

$$\text{volume pemberian nya} = \frac{9 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$$

Lampiran 6. Identifikasi senyawa daun teh hijau dengan metode reaksi kimia

| Senyawa | Hasil |
|------------------|--|
| Tanin |  |
| Saponin |  |
| Alkaloid |  |
| Flavonoid |  |

Lampiran 7. Alat dan bahan**Y-Maze****Moisture balance****Asam Valproat****Ekstrak daun teh hijau****Daun teh hijau****sebuk teh hijau**

Lampiran 8. Hasil (Repetitive Behavior) Murble Burying hari 1 sampai 3

| Kelompok | Hari 1 | | Hari 2 | | Hari 3 | |
|-----------|--------|------|--------|------|--------|------|
| | | SD | | SD | | SD |
| K.1.1 | 10,00 | 1,14 | 8,00 | 0,84 | 6,00 | 1,67 |
| K.1.2 | 9,00 | | 10,00 | | 5,00 | |
| K.1.3 | 7,00 | | 9,00 | | 7,00 | |
| K.1.4 | 8,00 | | 10,00 | | 9,00 | |
| K.1.5 | 9,00 | | 9,00 | | 5,00 | |
| Rata-rata | 8,60 | | 9,20 | | 6,40 | |
| K(-).1.1 | 17,00 | 1,14 | 17,00 | 0,71 | 17,00 | 2,77 |
| K(-).1.2 | 18,00 | | 16,00 | | 12,00 | |
| K(-).1.3 | 15,00 | | 17,00 | | 18,00 | |
| K(-).1.4 | 17,00 | | 18,00 | | 19,00 | |
| K(-).1.5 | 16,00 | | 17,00 | | 18,00 | |
| Rata-rata | 16,60 | | 17,00 | | 16,80 | |
| Y.1.1 | 14,00 | 1,82 | 13,00 | 1,14 | 15,00 | 2,24 |
| Y.1.2 | 16,00 | | 14,00 | | 13,00 | |
| Y.1.3 | 19,00 | | 15,00 | | 12,00 | |
| Y.1.4 | 16,00 | | 13,00 | | 11,00 | |
| Y.1.5 | 17,00 | | 12,00 | | 9,00 | |
| Rata-rata | 16,40 | | 13,40 | | 12,00 | |
| Y.2.1 | 9,00 | 1,14 | 10,00 | 2,39 | 7,00 | 0,84 |
| Y.2.2 | 10,00 | | 13,00 | | 8,00 | |
| Y.2.3 | 9,00 | | 11,00 | | 9,00 | |
| Y.2.4 | 8,00 | | 8,00 | | 7,00 | |
| Y.2.5 | 11,00 | | 7,00 | | 8,00 | |
| Rata-rata | 9,40 | | 9,80 | | 7,80 | |
| Y.3.1 | 10,00 | 1,00 | 8,00 | 1,30 | 9,00 | 1,14 |
| Y.3.2 | 8,00 | | 10,00 | | 6,00 | |
| Y.3.3 | 9,00 | | 9,00 | | 7,00 | |
| Y.3.4 | 10,00 | | 11,00 | | 8,00 | |
| Y.3.5 | 8,00 | | 8,00 | | 7,00 | |
| Rata-rata | 9,00 | | 9,20 | | 7,40 | |

Lampiran 9. Hasil (Repetitive Behavior) *Grooming* dan *Digging* hari 1 sampai 3

| Kelompok | Hari 1 | | Hari 2 | | Hari 3 | |
|-----------|--------|------|--------|------|--------|------|
| | | SD | | SD | | SD |
| K.1.1 | 3,00 | 1,14 | 6,00 | 1,30 | 2,00 | 1,79 |
| K.1.2 | 3,00 | | 4,00 | | 5,00 | |
| K.1.3 | 4,00 | | 4,00 | | 6,00 | |
| K.1.4 | 2,00 | | 7,00 | | 4,00 | |
| K.1.5 | 5,00 | | 5,00 | | 2,00 | |
| Rata-rata | 3,40 | | 5,20 | | 3,80 | |
| K(-).1.1 | 12,00 | 1,67 | 12,00 | 1,62 | 8,00 | 0,84 |
| K(-).1.2 | 8,00 | | 10,00 | | 7,00 | |
| K(-).1.3 | 9,00 | | 9,00 | | 8,00 | |
| K(-).1.4 | 8,00 | | 7,00 | | 7,00 | |
| K(-).1.5 | 10,00 | | 9,00 | | 9,00 | |
| Rata-rata | 9,40 | | 9,40 | | 7,80 | |
| Y.1.1 | 13,00 | 3,19 | 6,00 | 3,05 | 5,00 | 3,97 |
| Y.1.2 | 6,00 | | 5,00 | | 8,00 | |
| Y.1.3 | 6,00 | | 12,00 | | 2,00 | |
| Y.1.4 | 10,00 | | 5,00 | | 10,00 | |
| Y.1.5 | 6,00 | | 9,00 | | 12,00 | |
| Rata-rata | 8,20 | | 7,40 | | 7,40 | |
| Y.2.1 | 4,00 | 2,39 | 2,00 | 2,00 | 4,00 | 2,00 |
| Y.2.2 | 4,00 | | 2,00 | | 3,00 | |
| Y.2.3 | 4,00 | | 6,00 | | 6,00 | |
| Y.2.4 | 9,00 | | 4,00 | | 4,00 | |
| Y.2.5 | 3,00 | | 6,00 | | 8,00 | |
| Rata-rata | 4,80 | | 4,00 | | 5,00 | |
| Y.3.1 | 3,00 | 1,48 | 2,00 | 2,00 | 4,00 | 1,87 |
| Y.3.2 | 4,00 | | 6,00 | | 7,00 | |
| Y.3.3 | 2,00 | | 7,00 | | 2,00 | |
| Y.3.4 | 4,00 | | 4,00 | | 3,00 | |
| Y.3.5 | 6,00 | | 6,00 | | 4,00 | |
| Rata-rata | 3,80 | | 5,00 | | 4,00 | |

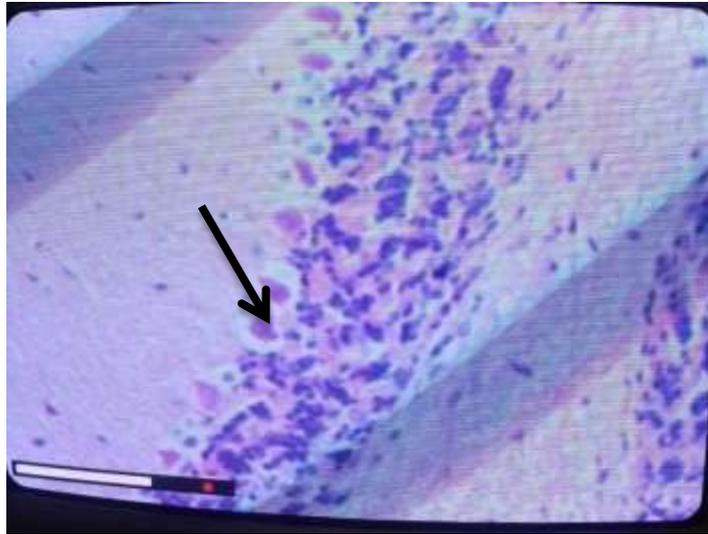
Lampiran 10. Data y-maze

| kelompok | mencit | Lengan entry | | | n | triplet set | n | triplet set | n | triplet set | Kecepatan (%) | | |
|-----------------|--------|------------------------|-------------------|---------------------|----|-------------|----|-------------|----|-------------|---------------|-------|--------|
| | | H1 | H2 | H3 | | | | | | | H1 | H2 | H3 |
| Normal | 1 | CBACBACBACBACBACB | CBACBACBACBACBACB | ACBACBACBACBACB | 22 | 12 | 22 | 12 | 18 | 11 | 60,00 | 60,00 | 68,75 |
| | 2 | BACBACBACBACBACBACBACB | BACBACBACBACBACB | BACBACBACBACB | 26 | 14 | 20 | 12 | 16 | 10 | 58,33 | 66,67 | 71,43 |
| | 3 | ABCBACBACBACBACB | ACBACBACBACBACB | CBACBACBACB | 21 | 13 | 18 | 10 | 14 | 8 | 68,42 | 62,50 | 66,67 |
| | 4 | CACBACBACBACBACB | CBACBACBACB | CBACBACBACBACBACB | 22 | 12 | 16 | 8 | 20 | 10 | 60,00 | 57,14 | 55,56 |
| | 5 | CCBACBACBACBACB | ABCBACBACBACB | CBACBACBACB | 22 | 12 | 18 | 10 | 13 | 6 | 60,00 | 62,50 | 54,55 |
| negatif | 1 | CACB | CBBA | CBABBA | 5 | 1 | 5 | 1 | 6 | 1 | 33,33 | 33,33 | 25,00 |
| | 2 | ABBCB | BACBACBACB | B | 7 | 2 | 12 | 4 | 1 | 0 | 40,00 | 40,00 | 0,00 |
| | 3 | CACBACBABA | CACBACBAC | ABBCBAC | 11 | 4 | 11 | 4 | 7 | 2 | 44,44 | 44,44 | 40,00 |
| | 4 | BCACBACBA | ACBACBACBACBACB | CBACBACBA | 9 | 4 | 16 | 6 | 8 | 1 | 57,14 | 42,86 | 16,67 |
| | 5 | ABAACB | CBACBACBABA | CACBACBACCBACB | 5 | 1 | 15 | 5 | 10 | 3 | 33,33 | 38,46 | 37,50 |
| dosis 150 mg/kg | 1 | CACBACBACBACBACB | ACBACBACBACBACB | ABCBACBACBACBACBACB | 17 | 7 | 21 | 9 | 45 | 26 | 46,67 | 47,38 | 60,47 |
| | 2 | ABACBACBACBACB | ACBACBACBACBACB | CBCBACBACBACB | 16 | 5 | 18 | 8 | 15 | 8 | 35,71 | 50,00 | 61,54 |
| | 3 | BACBACBACBACB | ABACBACBACBACB | ABCB | 16 | 7 | 16 | 6 | 4 | 1 | 50,00 | 42,86 | 50,00 |
| | 4 | CBACBACBACB | CBACBACBACB | ABCBACBACBACB | 9 | 3 | 14 | 8 | 12 | 5 | 42,86 | 66,67 | 50,00 |
| | 5 | CBACBACBACBACB | BACBACBACB | ABCBACBACBACBACB | 12 | 4 | 12 | 6 | 23 | 17 | 40,00 | 60,00 | 80,95 |
| dosis 300 mg/kg | 1 | CBACBACBACBACB | ACBACB | ABCBACBACBACBACB | 18 | 9 | 8 | 3 | 18 | 11 | 56,25 | 50,00 | 68,75 |
| | 2 | CBACBACBACBACBACB | ACBACBACBACBACB | CBACBACBACB | 22 | 13 | 21 | 9 | 13 | 7 | 65,00 | 47,37 | 63,64 |
| | 3 | ABCBACBACBACBACB | BACBACBACBACBACB | CACBACBACBACB | 21 | 9 | 22 | 12 | 18 | 8 | 47,37 | 60,00 | 50,00 |
| | 4 | BACBACBACBACBACB | CBCBACBACB | ABCBACBACB | 20 | 12 | 14 | 8 | 13 | 7 | 66,67 | 66,67 | 63,64 |
| | 5 | BABABACB | CBACBACBACB | ACBACB | 19 | 8 | 18 | 12 | 7 | 3 | 47,06 | 75,00 | 60,00 |
| dosis 450 mg/kg | 1 | ACBACB | ABCBACBACBACB | ABABBCBACB | 8 | 3 | 18 | 11 | 13 | 5 | 50,00 | 68,75 | 45,45 |
| | 2 | BACBACBACBACBACB | CBACBACBACB | BACBACBACBACBACB | 22 | 12 | 13 | 7 | 20 | 9 | 60,00 | 63,64 | 50,00 |
| | 3 | BCBACBACBACB | CACBACBACBACB | CBACB | 18 | 12 | 18 | 8 | 6 | 4 | 75,00 | 50,00 | 100,00 |
| | 4 | ACBACBACBACBACB | ABCBACBACB | BCBACBACBACB | 21 | 9 | 13 | 7 | 17 | 8 | 47,37 | 63,64 | 53,33 |
| | 5 | ABCBACBACBACB | CBACBACBACBACB | ACBACBACB | 17 | 10 | 21 | 8 | 12 | 7 | 66,67 | 41,11 | 70,00 |

Lampiran 11. Berat badan Mencit

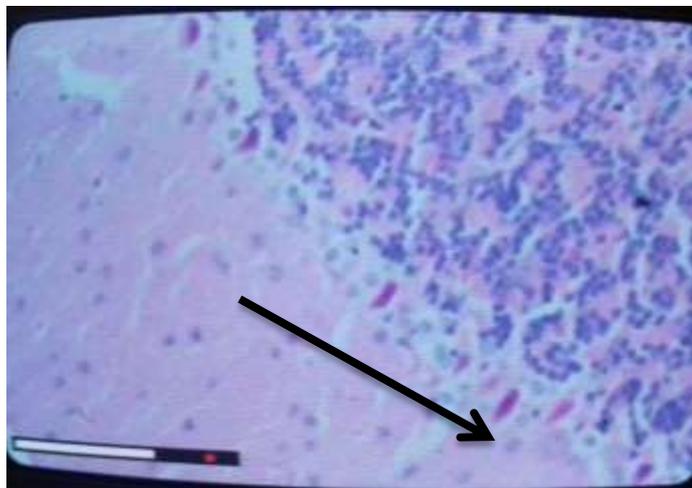
| | 13 juli 2017 | 14 juli 2017 | 15 juli 2017 | 16 juli 2017 | 17 juli 2017 | 18 juli 2017 | 19 juli 2017 |
|---------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Kode | BB |
| | Gram |
| K.N.1 | 10 | 10 | 10 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| K.N.2 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 12 |
| K.N.3 | 10 | 10 | 10 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| K.N.4 | 11 | 10 | 11 | 12 | 11 | 10 | 12 |
| K.N.5 | 10 | 10 | 11 | 12 | 12 | 11 | 12 |
| K.(-).1 | 8 | 9 | 9 | 11 | 12 | 11 | 13 |
| K.(-).2 | 9 | 11 | 11 | 12 | 13 | 13 | 12 |
| K.(-).3 | 8 | 9 | 10 | 9 | 11 | 11 | 12 |
| K.(-).4 | 10 | 10 | 12 | 12 | 13 | 14 | 13 |
| K.(-).5 | 9 | 10 | 11 | 12 | 12 | 11 | 13 |
| Teh 150 | 10 | 10 | 12 | 12 | 12 | 13 | 13 |
| Teh 150 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 13 | 13 |
| Teh 150 | 9 | 9 | 11 | 11 | 11 | 12 | 13 |
| Teh 150 | 12 | 12 | 13 | 13 | 13 | 14 | 13 |
| Teh 150 | 11 | 11 | 12 | 12 | 11 | 12 | 12 |
| Teh 300 | 12 | 12 | 13 | 13 | 14 | 13 | 13 |
| Teh 300 | 11 | 11 | 12 | 12 | 13 | 13 | 12 |
| Teh 300 | 10 | 10 | 10 | 10 | 12 | 12 | 12 |
| Teh 300 | 12 | 12 | 11 | 12 | 12 | 12 | 13 |
| Teh 300 | 9 | 9 | 10 | 11 | 12 | 11 | 12 |
| Teh 450 | 11 | 11 | 12 | 12 | 11 | 13 | 13 |
| Teh 450 | 12 | 12 | 13 | 14 | 14 | 12 | 12 |
| Teh 450 | 7 | 7 | 9 | 8 | 9 | 9 | 10 |
| Teh 450 | 10 | 11 | 11 | 13 | 13 | 13 | 13 |
| Teh 450 | 11 | 11 | 12 | 13 | 12 | 12 | 13 |

Lampiran 12. Gambaran Histopatologi otak mencit dengan perbesaran 100x



Gambaran Histopatologi otak (Normal)

Ket: pada panah di gambar menunjukkan kelompok normal masih saling berdekatan cerebellumnya



Gambaran Histopatologi otak 400 mg/kg bb (Autis)

Ket: pada panah di gambar menunjukkan dosis 400mg sudah mampu merusak otak cerebellum

Lampiran 13. Hasil uji statistik one way anova Murble burying umur 23

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| murble burying umur 23 kelompok normal | .237 | 5 | .200 [*] | .961 | 5 | .814 |
| kelompok negatif | .237 | 5 | .200 [*] | .961 | 5 | .814 |
| dosis 150 mg/kg | .263 | 5 | .200 [*] | .951 | 5 | .747 |
| dosis 300 mg/kg | .237 | 5 | .200 [*] | .961 | 5 | .814 |
| dosis 450 mg/kg | .221 | 5 | .200 [*] | .902 | 5 | .421 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

murble burying uumur 23

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .426 | 4 | 20 | .788 |

ANOVA

murble burying umur 23

| | Sum of Squares | Df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 273.440 | 4 | 68.360 | 33.184 | .000 |
| Within Groups | 41.200 | 20 | 2.060 | | |
| Total | 314.640 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

murble burying umur 23

Tukey HSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------|------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kelompok normal | kelompok negatif | -8.000* | .908 | .000 | -10.72 | -5.28 |
| | dosis 150 mg/kg | -4.600* | .908 | .001 | -7.32 | -1.88 |
| | dosis 300 mg/kg | -.800 | .908 | .900 | -3.52 | 1.92 |
| | dosis 450 mg/kg | .800 | .908 | .900 | -1.92 | 3.52 |
| kelompok negatif | kelompok normal | 8.000* | .908 | .000 | 5.28 | 10.72 |
| | dosis 150 mg/kg | 3.400* | .908 | .010 | .68 | 6.12 |
| | dosis 300 mg/kg | 7.200* | .908 | .000 | 4.48 | 9.92 |
| | dosis 450 mg/kg | 8.800* | .908 | .000 | 6.08 | 11.52 |
| dosis 150 mg/kg | kelompok normal | 4.600* | .908 | .001 | 1.88 | 7.32 |
| | kelompok negatif | -3.400* | .908 | .010 | -6.12 | -.68 |
| | dosis 300 mg/kg | 3.800* | .908 | .004 | 1.08 | 6.52 |
| | dosis 450 mg/kg | 5.400* | .908 | .000 | 2.68 | 8.12 |
| dosis 300 mg/kg | kelompok normal | .800 | .908 | .900 | -1.92 | 3.52 |
| | kelompok negatif | -7.200* | .908 | .000 | -9.92 | -4.48 |
| | dosis 150 mg/kg | -3.800* | .908 | .004 | -6.52 | -1.08 |
| | dosis 450 mg/kg | 1.600 | .908 | .421 | -1.12 | 4.32 |
| dosis 450 mg/kg | kelompok normal | -.800 | .908 | .900 | -3.52 | 1.92 |
| | kelompok negatif | -8.800* | .908 | .000 | -11.52 | -6.08 |
| | dosis 150 mg/kg | -5.400* | .908 | .000 | -8.12 | -2.68 |
| | dosis 300 mg/kg | -1.600 | .908 | .421 | -4.32 | 1.12 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

murble burying umur 23

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|------------------|---|-------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| dosis 450 mg/kg | 5 | 7.80 | | |
| kelompok normal | 5 | 8.60 | | |
| dosis 300 mg/kg | 5 | 9.40 | | |
| dosis 150 mg/kg | 5 | | 13.20 | |
| kelompok negatif | 5 | | | 16.60 |
| Sig. | | .421 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 14. Hasil uji statistik one way anova Murble burying umur 25

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| murble burying umur 25 | | | | | | |
| kelompok normal | .231 | 5 | .200* | .881 | 5 | .314 |
| kelompok negatif | .300 | 5 | .161 | .883 | 5 | .325 |
| dosis 150 mg/kg | .237 | 5 | .200* | .961 | 5 | .814 |
| dosis 300 mg/kg | .175 | 5 | .200* | .974 | 5 | .899 |
| dosis 450 mg/kg | .221 | 5 | .200* | .902 | 5 | .421 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

murble burying umur 25

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.853 | 4 | 20 | .051 |

ANOVA

murble burying umur 25

| | Sum of Squares | Df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 235.440 | 4 | 58.860 | 29.727 | .000 |
| Within Groups | 39.600 | 20 | 1.980 | | |
| Total | 275.040 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

murble burying umur 25

Tukey HSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------|------------------|-----------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kelompok normal | kelompok negatif | -7.800* | .890 | .000 | -10.46 | -5.14 |
| | dosis 150 mg/kg | -4.200* | .890 | .001 | -6.86 | -1.54 |
| | dosis 300 mg/kg | -.600 | .890 | .960 | -3.26 | 2.06 |
| | dosis 450 mg/kg | .000 | .890 | 1.000 | -2.66 | 2.66 |
| kelompok negatif | kelompok normal | 7.800* | .890 | .000 | 5.14 | 10.46 |
| | dosis 150 mg/kg | 3.600* | .890 | .005 | .94 | 6.26 |
| | dosis 300 mg/kg | 7.200* | .890 | .000 | 4.54 | 9.86 |
| | dosis 450 mg/kg | 7.800* | .890 | .000 | 5.14 | 10.46 |
| dosis 150 mg/kg | kelompok normal | 4.200* | .890 | .001 | 1.54 | 6.86 |
| | kelompok negatif | -3.600* | .890 | .005 | -6.26 | -.94 |
| | dosis 300 mg/kg | 3.600* | .890 | .005 | .94 | 6.26 |
| | dosis 450 mg/kg | 4.200* | .890 | .001 | 1.54 | 6.86 |
| dosis 300 mg/kg | kelompok normal | .600 | .890 | .960 | -2.06 | 3.26 |
| | kelompok negatif | -7.200* | .890 | .000 | -9.86 | -4.54 |
| | dosis 150 mg/kg | -3.600* | .890 | .005 | -6.26 | -.94 |
| | dosis 450 mg/kg | .600 | .890 | .960 | -2.06 | 3.26 |
| dosis 450 mg/kg | kelompok normal | .000 | .890 | 1.000 | -2.66 | 2.66 |
| | kelompok negatif | -7.800* | .890 | .000 | -10.46 | -5.14 |
| | dosis 150 mg/kg | -4.200* | .890 | .001 | -6.86 | -1.54 |
| | dosis 300 mg/kg | -.600 | .890 | .960 | -3.26 | 2.06 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

murble burying umur 25

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|------------------|---|-------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| kelompok normal | 5 | 9.20 | | |
| dosis 450 mg/kg | 5 | 9.20 | | |
| dosis 300 mg/kg | 5 | 9.80 | | |
| dosis 150 mg/kg | 5 | | 13.40 | |
| kelompok negatif | 5 | | | 17.00 |
| Sig. | | .960 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

murble burying umur 25

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|------------------|---|-------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| kelompok normal | 5 | 9.20 | | |
| dosis 450 mg/kg | 5 | 9.20 | | |
| dosis 300 mg/kg | 5 | 9.80 | | |
| dosis 150 mg/kg | 5 | | 13.40 | |
| kelompok negatif | 5 | | | 17.00 |
| Sig. | | .960 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 15. Hasil uji statistik one way anova Murble burying umur 27

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--|---------------------------------|----|-------|--------------|----|-------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| murble burying umur 27 kelompok normal | .201 | 5 | .200* | .881 | 5 | .314 |
| kelompok negatif | .329 | 5 | .082 | .778 | 5 | .053 |
| dosis 150 mg/kg | .127 | 5 | .200* | .999 | 5 | 1.000 |
| dosis 300 mg/kg | .231 | 5 | .200* | .881 | 5 | .314 |
| dosis 450 mg/kg | .237 | 5 | .200* | .961 | 5 | .814 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

murble burying Humur 27

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1.095 | 4 | 20 | .386 |

ANOVA

murble burying umur 27

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 373.840 | 4 | 93.460 | 26.703 | .000 |
| Within Groups | 70.000 | 20 | 3.500 | | |
| Total | 443.840 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

murble burying umur 27

Tukey HSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------|------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kelompok normal | kelompok negatif | -10.400* | 1.183 | .000 | -13.94 | -6.86 |
| | dosis 150 mg/kg | -5.600* | 1.183 | .001 | -9.14 | -2.06 |
| | dosis 300 mg/kg | -1.400 | 1.183 | .761 | -4.94 | 2.14 |
| | dosis 450 mg/kg | -1.000 | 1.183 | .913 | -4.54 | 2.54 |
| kelompok negatif | kelompok normal | 10.400* | 1.183 | .000 | 6.86 | 13.94 |
| | dosis 150 mg/kg | 4.800* | 1.183 | .005 | 1.26 | 8.34 |
| | dosis 300 mg/kg | 9.000* | 1.183 | .000 | 5.46 | 12.54 |
| | dosis 450 mg/kg | 9.400* | 1.183 | .000 | 5.86 | 12.94 |
| dosis 150 mg/kg | kelompok normal | 5.600* | 1.183 | .001 | 2.06 | 9.14 |
| | kelompok negatif | -4.800* | 1.183 | .005 | -8.34 | -1.26 |
| | dosis 300 mg/kg | 4.200* | 1.183 | .015 | .66 | 7.74 |
| | dosis 450 mg/kg | 4.600* | 1.183 | .007 | 1.06 | 8.14 |
| dosis 300 mg/kg | kelompok normal | 1.400 | 1.183 | .761 | -2.14 | 4.94 |
| | kelompok negatif | -9.000* | 1.183 | .000 | -12.54 | -5.46 |
| | dosis 150 mg/kg | -4.200* | 1.183 | .015 | -7.74 | -.66 |
| | dosis 450 mg/kg | .400 | 1.183 | .997 | -3.14 | 3.94 |
| dosis 450 mg/kg | kelompok normal | 1.000 | 1.183 | .913 | -2.54 | 4.54 |
| | kelompok negatif | -9.400* | 1.183 | .000 | -12.94 | -5.86 |
| | dosis 150 mg/kg | -4.600* | 1.183 | .007 | -8.14 | -1.06 |
| | dosis 300 mg/kg | -.400 | 1.183 | .997 | -3.94 | 3.14 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

murble burying H 3

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|------------------|---|-------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| kelompok normal | 5 | 6.40 | | |
| dosis 450 mg/kg | 5 | 7.40 | | |
| dosis 300 mg/kg | 5 | 7.80 | | |
| dosis 150 mg/kg | 5 | | 12.00 | |
| kelompok negatif | 5 | | | 16.80 |
| Sig. | | .761 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 16. Hasil uji statistik one way anova *digging grooming* umur 24

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | Df | Sig. |
| digging dan grooming umur 24 kelompok normal | .221 | 5 | .200* | .902 | 5 | .421 |
| kelompok negatif | .136 | 5 | .200* | .987 | 5 | .967 |
| dosis 150mg/kg | .136 | 5 | .200* | .987 | 5 | .967 |
| dosis 300mg/kg | .224 | 5 | .200* | .842 | 5 | .171 |
| dosis 450mg/kg | .291 | 5 | .191 | .905 | 5 | .440 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

digging dan grooming umur 24

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .356 | 4 | 20 | .837 |

ANOVA

digging dan grooming umur 24

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 299.840 | 4 | 74.960 | 24.987 | .000 |
| Within Groups | 60.000 | 20 | 3.000 | | |
| Total | 359.840 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

digging dan grooming umur 24

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------|------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kelompok normal | kelompok negatif | -9.200 [*] | 1.095 | .000 | -12.48 | -5.92 |
| | dosis 150mg/kg | -5.200 [*] | 1.095 | .001 | -8.48 | -1.92 |
| | dosis 300mg/kg | -.800 | 1.095 | .947 | -4.08 | 2.48 |
| | dosis 450mg/kg | -1.200 | 1.095 | .807 | -4.48 | 2.08 |
| kelompok negatif | kelompok normal | 9.200 [*] | 1.095 | .000 | 5.92 | 12.48 |
| | dosis 150mg/kg | 4.000 [*] | 1.095 | .012 | .72 | 7.28 |
| | dosis 300mg/kg | 8.400 [*] | 1.095 | .000 | 5.12 | 11.68 |
| | dosis 450mg/kg | 8.000 [*] | 1.095 | .000 | 4.72 | 11.28 |
| dosis 150mg/kg | kelompok normal | 5.200 [*] | 1.095 | .001 | 1.92 | 8.48 |
| | kelompok negatif | -4.000 [*] | 1.095 | .012 | -7.28 | -.72 |
| | dosis 300mg/kg | 4.400 [*] | 1.095 | .005 | 1.12 | 7.68 |
| | dosis 450mg/kg | 4.000 [*] | 1.095 | .012 | .72 | 7.28 |
| dosis 300mg/kg | kelompok normal | .800 | 1.095 | .947 | -2.48 | 4.08 |
| | kelompok negatif | -8.400 [*] | 1.095 | .000 | -11.68 | -5.12 |
| | dosis 150mg/kg | -4.400 [*] | 1.095 | .005 | -7.68 | -1.12 |
| | dosis 450mg/kg | -.400 | 1.095 | .996 | -3.68 | 2.88 |
| dosis 450mg/kg | kelompok normal | 1.200 | 1.095 | .807 | -2.08 | 4.48 |
| | kelompok negatif | -8.000 [*] | 1.095 | .000 | -11.28 | -4.72 |
| | dosis 150mg/kg | -4.000 [*] | 1.095 | .012 | -7.28 | -.72 |
| | dosis 300mg/kg | .400 | 1.095 | .996 | -2.88 | 3.68 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

digging dan grooming umur 24

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|------------------|---|-------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| kelompok normal | 5 | 3.80 | | |
| dosis 300mg/kg | 5 | 4.60 | | |
| dosis 450mg/kg | 5 | 5.00 | | |
| dosis 150mg/kg | 5 | | 9.00 | |
| kelompok negatif | 5 | | | 13.00 |
| Sig. | | .807 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 17. Hasil uji statistik one way anova digging grooming umur 26

Tests of Normality

| Kelompok | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------------------------|------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| digging dan grooming umur 26 | kelompok normal | .224 | 5 | .200* | .842 | 5 | .171 |
| | kelompok negatif | .221 | 5 | .200* | .915 | 5 | .501 |
| | dosis 150mg/kg | .136 | 5 | .200* | .987 | 5 | .967 |
| | dosis 300mg/kg | .237 | 5 | .200* | .961 | 5 | .814 |
| | dosis 450mg/kg | .287 | 5 | .200* | .914 | 5 | .490 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

digging dan grooming umur 26

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1.522 | 4 | 20 | .234 |

ANOVA

digging dan grooming umur 26

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 218.000 | 4 | 54.500 | 15.571 | .000 |
| Within Groups | 70.000 | 20 | 3.500 | | |
| Total | 288.000 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

digging dan grooming umur 26

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------|------------------|-----------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kelompok normal | kelompok negatif | -6.600* | 1.183 | .000 | -10.14 | -3.06 |
| | dosis 150mg/kg | -4.400* | 1.183 | .011 | -7.94 | -.86 |
| | dosis 300mg/kg | .200 | 1.183 | 1.000 | -3.34 | 3.74 |
| | dosis 450mg/kg | .800 | 1.183 | .959 | -2.74 | 4.34 |
| kelompok negatif | kelompok normal | 6.600* | 1.183 | .000 | 3.06 | 10.14 |
| | dosis 150mg/kg | 2.200 | 1.183 | .370 | -1.34 | 5.74 |
| | dosis 300mg/kg | 6.800* | 1.183 | .000 | 3.26 | 10.34 |
| | dosis 450mg/kg | 7.400* | 1.183 | .000 | 3.86 | 10.94 |
| dosis 150mg/kg | kelompok normal | 4.400* | 1.183 | .011 | .86 | 7.94 |
| | kelompok negatif | -2.200 | 1.183 | .370 | -5.74 | 1.34 |
| | dosis 300mg/kg | 4.600* | 1.183 | .007 | 1.06 | 8.14 |
| | dosis 450mg/kg | 5.200* | 1.183 | .002 | 1.66 | 8.74 |
| dosis 300mg/kg | kelompok normal | -.200 | 1.183 | 1.000 | -3.74 | 3.34 |
| | kelompok negatif | -6.800* | 1.183 | .000 | -10.34 | -3.26 |
| | dosis 150mg/kg | -4.600* | 1.183 | .007 | -8.14 | -1.06 |
| | dosis 450mg/kg | .600 | 1.183 | .986 | -2.94 | 4.14 |
| dosis 450mg/kg | kelompok normal | -.800 | 1.183 | .959 | -4.34 | 2.74 |
| | kelompok negatif | -7.400* | 1.183 | .000 | -10.94 | -3.86 |
| | dosis 150mg/kg | -5.200* | 1.183 | .002 | -8.74 | -1.66 |
| | dosis 300mg/kg | -.600 | 1.183 | .986 | -4.14 | 2.94 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

digging dan grooming umur 26

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | |
|------------------|---|-------------------------|-------|
| | | 1 | 2 |
| dosis 450mg/kg | 5 | 4.80 | |
| dosis 300mg/kg | 5 | 5.40 | |
| kelompok normal | 5 | 5.60 | |
| dosis 150mg/kg | 5 | | 10.00 |
| kelompok negatif | 5 | | 12.20 |
| Sig. | | .959 | .370 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 18. Hasil uji statistik one way anova digging grooming umur 28

Tests of Normality

| Kelompok | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| dingging dan grooming 28 | | | | | | |
| kelompok normal | .136 | 5 | .200* | .987 | 5 | .967 |
| kelompok negatif | .268 | 5 | .200* | .806 | 5 | .090 |
| dosis 150mg/kg | .254 | 5 | .200* | .914 | 5 | .492 |
| dosis 300mg/kg | .246 | 5 | .200* | .956 | 5 | .777 |
| dosis 450mg/kg | .287 | 5 | .200* | .914 | 5 | .490 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

dingging dan grooming umur 28

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .407 | 4 | 20 | .802 |

ANOVA

dingging dan grooming umur 28

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 274.640 | 4 | 68.660 | 21.591 | .000 |
| Within Groups | 63.600 | 20 | 3.180 | | |
| Total | 338.240 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

dingging dan grooming umur 28

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------|------------------|-----------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kelompok normal | kelompok negatif | -8.200* | 1.128 | .000 | -11.57 | -4.83 |
| | dosis 150mg/kg | -4.400* | 1.128 | .007 | -7.77 | -1.03 |
| | dosis 300mg/kg | .200 | 1.128 | 1.000 | -3.17 | 3.57 |
| | dosis 450mg/kg | -.200 | 1.128 | 1.000 | -3.57 | 3.17 |
| kelompok negatif | kelompok normal | 8.200* | 1.128 | .000 | 4.83 | 11.57 |
| | dosis 150mg/kg | 3.800* | 1.128 | .023 | .43 | 7.17 |
| | dosis 300mg/kg | 8.400* | 1.128 | .000 | 5.03 | 11.77 |
| | dosis 450mg/kg | 8.000* | 1.128 | .000 | 4.63 | 11.37 |
| dosis 150mg/kg | kelompok normal | 4.400* | 1.128 | .007 | 1.03 | 7.77 |
| | kelompok negatif | -3.800* | 1.128 | .023 | -7.17 | -.43 |
| | dosis 300mg/kg | 4.600* | 1.128 | .005 | 1.23 | 7.97 |
| | dosis 450mg/kg | 4.200* | 1.128 | .010 | .83 | 7.57 |
| dosis 300mg/kg | kelompok normal | -.200 | 1.128 | 1.000 | -3.57 | 3.17 |
| | kelompok negatif | -8.400* | 1.128 | .000 | -11.77 | -5.03 |
| | dosis 150mg/kg | -4.600* | 1.128 | .005 | -7.97 | -1.23 |
| | dosis 450mg/kg | -.400 | 1.128 | .996 | -3.77 | 2.97 |
| dosis 450mg/kg | kelompok normal | .200 | 1.128 | 1.000 | -3.17 | 3.57 |
| | kelompok negatif | -8.000* | 1.128 | .000 | -11.37 | -4.63 |
| | dosis 150mg/kg | -4.200* | 1.128 | .010 | -7.57 | -.83 |
| | dosis 300mg/kg | .400 | 1.128 | .996 | -2.97 | 3.77 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

dingging dan grooming umur 28

Tukey HSD^a

| Kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
|------------------|---|-------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| dosis 300mg/kg | 5 | 4.80 | | |
| kelompok normal | 5 | 5.00 | | |
| dosis 450mg/kg | 5 | 5.20 | | |
| dosis 150mg/kg | 5 | | 9.40 | |
| kelompok negatif | 5 | | | 13.20 |
| Sig. | | .996 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 19. Hasil uji statistik one way anova Y maze

| Kelompok | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------|------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | Df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| perlakuan | kelompok normal | .211 | 5 | .200* | .889 | 5 | .352 |
| | kelompok negatif | .181 | 5 | .200* | .972 | 5 | .886 |
| | dosis 150 mg/Kg | .233 | 5 | .200* | .907 | 5 | .451 |
| | dosis 300 mg/kg | .231 | 5 | .200* | .965 | 5 | .846 |
| | dosis 450 mg/Kg | .338 | 5 | .063 | .754 | 5 | .053 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Perlakuan

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .683 | 4 | 20 | .612 |

ANOVA

Perlakuan

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 2470.311 | 4 | 617.578 | 17.693 | .000 |
| Within Groups | 698.097 | 20 | 34.905 | | |
| Total | 3168.408 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Perlakuan
Tukey HSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------|------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kelompok normal | kelompok negatif | 27.06800* | 3.73657 | .000 | 15.8868 | 38.2492 |
| | dosis 150 mg/Kg | 9.83200 | 3.73657 | .102 | -1.3492 | 21.0132 |
| | dosis 300 mg/kg | 3.00800 | 3.73657 | .926 | -8.1732 | 14.1892 |
| | dosis 450 mg/Kg | 1.77400 | 3.73657 | .989 | -9.4072 | 12.9552 |
| kelompok negatif | kelompok normal | -27.06800* | 3.73657 | .000 | -38.2492 | -15.8868 |
| | dosis 150 mg/Kg | -17.23600* | 3.73657 | .001 | -28.4172 | -6.0548 |
| | dosis 300 mg/kg | -24.06000* | 3.73657 | .000 | -35.2412 | -12.8788 |
| | dosis 450 mg/Kg | -25.29400* | 3.73657 | .000 | -36.4752 | -14.1128 |
| dosis 150 mg/Kg | kelompok normal | -9.83200 | 3.73657 | .102 | -21.0132 | 1.3492 |
| | kelompok negatif | 17.23600* | 3.73657 | .001 | 6.0548 | 28.4172 |
| | dosis 300 mg/kg | -6.82400 | 3.73657 | .387 | -18.0052 | 4.3572 |
| | dosis 450 mg/Kg | -8.05800 | 3.73657 | .236 | -19.2392 | 3.1232 |
| dosis 300 mg/kg | kelompok normal | -3.00800 | 3.73657 | .926 | -14.1892 | 8.1732 |
| | kelompok negatif | 24.06000* | 3.73657 | .000 | 12.8788 | 35.2412 |
| | dosis 150 mg/Kg | 6.82400 | 3.73657 | .387 | -4.3572 | 18.0052 |
| | dosis 450 mg/Kg | -1.23400 | 3.73657 | .997 | -12.4152 | 9.9472 |
| dosis 450 mg/Kg | kelompok normal | -1.77400 | 3.73657 | .989 | -12.9552 | 9.4072 |
| | kelompok negatif | 25.29400* | 3.73657 | .000 | 14.1128 | 36.4752 |
| | dosis 150 mg/Kg | 8.05800 | 3.73657 | .236 | -3.1232 | 19.2392 |
| | dosis 300 mg/kg | 1.23400 | 3.73657 | .997 | -9.9472 | 12.4152 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Perlakuan

Tukey HSD^a

| kelompok | N | Subset for alpha = 0.05 | |
|------------------|---|-------------------------|---------|
| | | 1 | 2 |
| kelompok negatif | 5 | 35.1020 | |
| dosis 150 mg/Kg | 5 | | 52.3380 |
| dosis 300 mg/kg | 5 | | 59.1620 |
| dosis 450 mg/Kg | 5 | | 60.3960 |
| kelompok normal | 5 | | 62.1700 |
| Sig. | | 1.000 | .102 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.