



EFEK KONSUMSI TAPIOKA TERMODIFIKASI EKSTRAK TEH HIJAU TERHADAP PROFIL LIPID SERUM DARAH, ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) DAN MALONALDEHID (MDA) HATI TIKUS DIABETES
(EFFECT OF MODIFIED TAPIOCA WITH GREEN TEA EXTRACT CONSUMPTION ON BLOOD LIPID PROFILE, SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) ENZYME AND MALONALDEHYDE (MDA) LIVER OF DIABETIC RATS)

Elisa Diana Julianti, Nunung Nurjanah, Yunita Diana Sari

Pusat Riset Kesehatan Masyarakat dan Gizi, Badan Riset dan Inovasi Nasional,
Cibinong Science Center, Jalan Raya Jakarta-Bogor, Pakansari, Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Indonesia
E-mail: elis007@brin.go.id

Diterima: 13-09-2022

Direvisi: 04-11-2022

Disetujui: 16-11-2022

ABSTRACT

Diabetes is still a public health problem. Dyslipidemia and oxidative stress are common symptoms that accompany the disease. Green tea is a food source of antioxidants and antidyslipidemic. Starch is the main source of carbohydrates in the daily diet of people which contributes to more than half of energy intake. Tapioca starch (Manihot utilissima) could be physically and chemically modified with 4% green tea extract 58-62 oBrix as an antidiabetic functional food. This study aimed to determine the effect of tapioca starch modified with 4% green tea extract on blood lipid profiles (cholesterol, high-density lipoprotein-HDL, low-density lipoprotein-LDL, triglycerides) and liver antioxidant activity (activity of the enzyme superoxide dismutase-SOD, malonaldehyde-MDA) of diabetic rats. The Sprague Dawley rats aged two months weight of 175-250 g, were induced by streptozotocin and fed with tapioca starch modified with 4% green tea extract for 35 days. Blood lipid profile and liver antioxidant activity were analyzed by spectrophotometry. The results showed that tapioca starch modified with 4% green tea extract was not significantly reduced cholesterol, triglyceride, LDL, and MDA levels and increased HDL and SOD enzyme activity ($p>0.05$). The rats had an average blood lipid profile level of 9.6 – 70.8 mg/dL, SOD enzyme activity 0.561-0.885 U/mg, and malonaldehyde levels 0.025 – 0.090 nmol/mg. The study concluded that tapioca starch modified with 4% green tea extract 58-62 oBrix had not been effective yet in improving the blood lipid profile and antioxidant activity of diabetic rats.

Keywords: blood lipid profiles, diabetic rats, green tea, liver antioxidant activity, modified tapioca starch

ABSTRAK

Penyakit Diabetes masih menjadi masalah kesehatan masyarakat. Dislipidemia dan stress oksidatif merupakan gejala umum yang menyertai penyakit tersebut. Teh hijau merupakan bahan pangan sumber antioksidan dan anti dislipidemia. Pati adalah sumber karbohidrat utama dalam diet harian masyarakat yang menyumbangkan asupan energi lebih dari setengah kebutuhan. Pati tapioka (Manihot utilissima) dapat dimodifikasi secara fisik dan kimia dengan ekstrak teh hijau 4% dan berperan sebagai pangan fungsional antidiabetes. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian pati tapioka termodifikasi teh hijau 4%, 58-62 oBrix terhadap profil lipid darah (kolesterol, high density lipoprotein-HDL, low density lipoprotein-LDL, trigliserida) dan aktivitas antioksidan hati (aktivitas enzim superoksida dismutase-SOD, malonaldehid-MDA) tikus diabetes. Tikus yang digunakan adalah tikus Sprague Dawley umur dua bulan dengan berat 175-250 g. Tikus diinduksi menjadi diabetes dengan streptozotocin dan diberi pakan tapioka termodifikasi ekstrak teh 4% selama 35 hari. Profil lipid darah dan aktivitas antioksidan hati dianalisis dengan spektrofotometri. Hasil menunjukkan bahwa pemberian pati tapioka termodifikasi teh hijau 4% tidak signifikan menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, LDL dan MDA serta meningkatkan HDL dan aktivitas enzim SOD ($p>0,05$). Tikus percobaan memiliki rerata kadar profil lipid darah 9,6 – 70,8 mg/dL, aktivitas enzim SOD 0,561-0,885 U/mg dan kadar malonaldehid 0,025 – 0,090 nmol/mg. Penelitian ini menyimpulkan bahwa pati tapioka termodifikasi teh hijau 4%, 58-62 oBrix belum terbukti efektif memperbaiki profil lipid darah dan aktivitas antioksidan tikus diabetes. [Penel Gizi Makan 2022, 45(2):73-82]

Kata kunci: aktivitas antioksidan hati, profil lipid darah, tapioka termodifikasi, teh hijau, tikus diabetes

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan sindrom atau gangguan metabolisme kronis yang mencegah pemanfaatan glukosa oleh tubuh baik sebagian maupun sepenuhnya. Diabetes ditunjukkan dengan kadar gula tinggi dalam darah (hiperglikemia) dan dalam urin (glikosuria). Hal ini umumnya disertai dengan perubahan sekunder metabolisme lemak dan protein, yang mengakibatkan gangguan fisik. Penyebab diabetes mellitus adalah kurangnya sel-sel yang mensekresi insulin di pankreas. Karena kerja reseptor insulin yang tidak tepat, pergantian metabolisme akan terjadi berupa metabolisme karbohidrat (glukosa), protein (otot yang terbuang), lemak (produksi tubuh keto atau ketoasidosis)¹

Data Riskesdas 2018 menunjukkan prevalensi diabetes penduduk usia ≥ 15 tahun di Indonesia sebesar 2 persen, meningkat 0,5 persen dari data tahun 2013.^{2,3} Federasi Diabetes Internasional menyatakan bahwa diabetes adalah salah satu keadaan darurat kesehatan global dengan pertumbuhan tercepat di abad ke-21. Diperkirakan di tahun 2021 terdapat lebih dari setengah miliar orang hidup dengan diabetes di seluruh dunia. Jumlah total diprediksi akan meningkat menjadi 643 juta (11,3%) pada tahun 2030 dan menjadi 783 juta (12,2%) pada tahun 2045.⁴

Diabetes merupakan penyakit yang kompleks yang umumnya disertai dengan masalah kesehatan lain, diantaranya adalah dislipidemia dan peningkatan stress oksidatif.^{5,6,7} Dislipidemia adalah salah satu faktor risiko utama penyakit kardiovaskular pada diabetes mellitus. Ciri khas dislipidemia diabetik adalah kadar plasma trigliserida tinggi, *High Density Lipoprotein* (HDL) rendah dan peningkatan *Low Density Lipoprotein* (LDL).⁸ Pada penderita diabetes, kondisi hiperglikemik akan menyebabkan peningkatan glikolisis dan pembentukan asam piruvat yang mendorong terbentuknya radikal bebas berlebih. Radikal bebas yang umumnya ada pada diabetes adalah beberapa SOR (Senyawa Oksigen Reaktif) dan SNR (Senyawa Nitrogen Reaktif) yang paling penting dalam sel vaskular.⁹

Penanda stress oksidatif pada tikus diabetes dapat dilihat dari aktivitas enzim Superoxide dismutase (SOD) dan kadar malonaldehid hati. Enzim SOD adalah enzim antioksidan primer yang berperan dalam menangkal radikal bebas, yaitu mengkatalase anion dalam kondisi hiperglikemik pada diabetes.¹⁰ Malondialdehid (MDA) adalah senyawa dialdehid produk akhir dari peroksidasi lipid dalam tubuh, yang dihasilkan

melalui proses enzimatis atau nonenzimatis.¹¹

Teh hijau selain bersifat antidiabetic^{12,13} juga bersifat antioksidatif, antimutagenic, dan antikarsinogenik¹⁴. Ekstrak teh hijau memiliki aktivitas hepatoprotektif pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin¹⁵. Hasil tinjauan sistematis dan meta-analisis menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau dapat meningkatkan profil lipid dengan mengurangi konsentrasi serum trigliserida pada pasien diabetes tipe 2 dan intervensi ekstrak teh hijau dalam jangka panjang dapat mengurangi konsentrasi serum trigliserida (TG) dan total kolesterol (TC)¹⁶. Ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) juga dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) diabetes setara obat simvastatin dan mendekati nilai normal kadar kolesterol total¹⁷.

Kebutuhan kalori idealnya bersumber dari karbohidrat, WHO menyarankan 55-75 persen sumber kalori berasal dari karbohidrat¹⁸. Pati tapioka merupakan salah satu sumber karbohidrat dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Pertumbuhan konsumsi tapioka di Indonesia rata-rata sebesar 9% per tahun.¹⁹ Tapioka banyak digunakan dalam industri pangan diantaranya pada produk roti, kue, mie, makanan ringan, sup, saus, es krim, minuman, puding, selai, bumbu, dan lain-lain.²⁰

Bagi penderita diabetes tapioka tidak disarankan karena memiliki daya cerna dan indeks glikemik tinggi (IG) yang cepat meningkatkan glukosa dalam darah.^{21,22} Kombinasi ekstrak teh hijau dan tapioka sebagai makanan alternatif bagi penderita diabetes sudah dilakukan oleh Julianti *et al.* 2015.²³ Pati tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau terbukti memiliki efek hipoglikemik dan mampu mencegah kerusakan sel beta pankreas pada tikus diabetes. Oleh karena itu pati tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau dapat menjadi bahan baku dalam pengembangan makanan alternatif bagi penderita diabetes, sehingga tersedia berbagai pangan olahan berbahan baku pati tersebut. Modifikasi serupa pada pati jagung yang diolah menjadi kue basah terbukti mampu menurunkan IG produk dari 85,02 menjadi 74,96.²⁴ Formulasi tepung gandum dengan ekstrak teh hijau dan flavonol berpotensi menunda penyerapan glukosa darah saat mengonsumsi makanan bertepung dan meningkatkan kandungan pati resisten sebagai komponen penghambat pencernaan tepung gandum 3.4-3.5 kali lebih tinggi dari pada tepung gandum tanpa penambahan ekstrak teh hijau.²⁵ Sementara itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsumsi tapioka

termodifikasi ekstrak teh hijau terhadap profil lipid darah (kolesterol, Trigliserida, HDL dan LDL) dan aktivitas antioksidan (enzim SOD dan MDA) pada tikus diabetes.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni di laboratorium menggunakan hewan coba tikus *Sprague Dawley* jantan sebanyak 24 ekor, umur sekitar 2 bulan dengan berat badan 175-250 g. Penentuan jumlah sampel tikus menggunakan rumus *Federer* (t-1) (n-1) ≥ 15 , dengan t adalah jumlah perlakuan dan n adalah jumlah tikus. Kelompok perlakuan pada penelitian ini berjumlah 4 kelompok dengan n sebanyak 6 ekor sebagai jumlah minimal sampel tikus per kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri dari: 1) Kelompok T1: tikus normal diberi pakan dengan sumber karbohidrat dari tapioka asli; 2) Kelompok T2: tikus normal diberi pakan dengan sumber karbohidrat dari tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau 4 persen; 3) Kelompok T3: tikus diabetes yang diberi pakan dengan sumber karbohidrat dari tapioka asli; 4) Kelompok T4: tikus diabetes yang diberi pakan dengan sumber karbohidrat dari tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau 4 persen. Tikus dibuat diabetes melalui suntikan atau induksi streptozotocin dengan dosis tunggal 45 mg/kg BB. Intervensi dilakukan setelah gula darah puasa stabil (> 150 mg/dl) selama 3 hari berturut-turut. Pada akhir masa percobaan jumlah tikus masing-masing kelompok hanya berjumlah 4 ekor, kecuali kelompok T4 berjumlah 3 ekor. Pengurangan jumlah tersebut terjadi karena tikus mati. Perlakuan pada tikus percobaan dilakukan selama 34 hari. Pada hari ke 35 semua tikus dibedah.

Tikus percobaan melalui masa adaptasi selama 2 minggu sebelum perlakuan. Pada masa adaptasi tikus diberi pakan standar, air minum secara *ad libitum* dan antibiotik berupa *amoxicillin* dan obat cacing *Vermox* dengan dosis masing-masing 500 mg/kg BB untuk mencegah timbulnya penyakit pada tikus. Setiap ekor tikus diberi ransum secara teratur, menempati satu kandang yang ditempatkan dalam ruangan dengan suhu kamar yang telah diatur siklus udara dan cahaya serta dilengkapi *blower* untuk menjaga kelembaban lingkungan. Pemberian ransum dilakukan setiap hari antara pukul 07.00 sampai dengan 09.00 WIB. Jumlah ransum yang diberikan sebanyak ± 20 g/hari/ekor. Setelah masa adaptasi tikus diinduksi menjadi diabetes dengan streptozotocin dosis tunggal (45 mg/kg BB). Tikus dikembalikan ke kandang dan diberi

ransum dan air sukrosa 10% hingga tercapai glukosa darah puasa yang stabil (>150 mg/dL) selama 3 hari berturut-turut. Setelah itu pemberian pakan dilanjutkan dengan pakan uji (± 20 g/hari/ekor) sesuai dengan kelompok tikus selama 35 hari. Perlakuan terhadap tikus percobaan telah mendapatkan ijin etik dengan Nomor LB.03.04/KE/6/6122/2010 dari Komisi Etik Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari, bahan untuk pembuatan pati tapioka termodifikasi dan ekstrak teh hijau serta bahan kimia untuk analisis profil lipid darah (kolesterol, HDL, LDL) dan aktivitas antioksidan hati (superoksida dismutase-SOD dan malonaldehid-MDA). Pengukuran profil lipid dan aktivitas antioksidan hanya dilakukan pada akhir masa percobaan.

Bahan pembuatan pati termodifikasi adalah tapioka/pati singkong (*Manihot utilissima*) dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) jenis peko super sebagai sumber polifenol yang diperoleh dari Kebun Percobaan Pasir Sarongge, Cianjur. Pati tapioka diperoleh dari pabrik tapioka di kampung Tarikolot, Kelurahan Ciluer, Bogor.

Pembuatan tapioka termodifikasi diawali dengan pembuatan bubuk dan ekstrak teh hijau kering. Teh hijau kering digiling dengan menggunakan *dishmill* dan diayak dengan ukuran saringan 32 mesh. Ekstraksi bubuk teh hijau dilakukan dengan menambahkan air 1:10 (b/v) dan diekstrak dalam *waterbath* goyang 85 °C selama 8 menit. Selanjutnya disaring secara vakum dengan saringan 200 mesh dan disentrifuse dengan kecepatan 200 rpm dan dipekatkan sampai 58- 62°Brix dengan *rotary evaporator* 80°C. Polifenol yang terkandung dalam 1 g ekstrak daun teh hijau 58-62°Brix setara dengan 2330 mg GAE (*Gallat Equivalent*)²⁴.

Tapioka termodifikasi polifenol teh hijau diperoleh dengan cara merendam tapioka selama 6 jam dalam larutan ekstrak teh hijau dengan perbandingan tapioka dan larutan ekstrak teh hijau (1:1). Larutan ekstrak teh hijau diperoleh dengan melarutkan ekstrak teh hijau yang telah dipekatkan 58-62°Brix dalam air dengan konsentrasi 4% b/v (4 gram ekstrak teh hijau yang telah dipekatkan 58-62°Brix dalam 100 ml air). Setelah itu ditiriskan dan dikeringkan (80°C, 4 jam) hingga kadar air maksimal 13%²³.

Pakan tikus dibuat mengikuti metode AOAC 1995²⁶. Sumber pati seluruhnya berasal dari tapioka. Terdapat 2 kelompok perlakuan pakan yaitu kelompok pakan tapioka asli (tapioka tanpa penambahan ekstrak) dan

kelompok pakan tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau. Kelompok pakan tapioka asli terdiri dari kasein, minyak jagung, selulosa, vitamin dan mineral mix, tapioka asli dan air. Kelompok pakan tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau 4 persen terdiri dari kasein, minyak jagung, selulosa, vitamin dan mineral mix, tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau dan air. Air untuk minum menggunakan aquades. Pemberian pakan dilakukan setiap hari sebanyak 20 g/ekor.

Bahan yang digunakan untuk mengukur profil lipid darah meliputi serum darah tikus, kit pereaksi kolesterol (*AMS Diagnostics*), kit pereaksi trigliserida (*AMS Diagnostics*), dan kit pereaksi HDL (*Daichii Pure Chemical*), terdiri dari DSBmT (*N,N-bis (4-sulfobutyl)-m-toluidine disodium salt*) 0,5 mmol/L kolesterol oksidase 1,0 IU/L, dan 4-aminoantipyrine 1,0 mmol/L. Pada pengujian aktivitas enzim SOD dan kadar MDA diperlukan organ hati, larutan PBS (*Phosphat Buffer Saline*), HCl, larutan TEP (tetraetoksipropana), buffer Natrium-bikarbonat, xantin oksidase, dan buffer kalium fosfat.

Pembedahan tikus dilakukan pada hari ke-35 masa percobaan mengacu pada Widowati 2007.²⁷ Dari beberapa penelitian, eksperimen intervensi makanan dan herbal terhadap tikus diabetes bervariasi dengan periode mulai dari 2 minggu (14-16 hari) sampai 8 minggu (60 hari)^{15,17,28-31}. Tikus dibedah untuk diambil darah dari jantung. Sebelum dilakukan pembedahan, tikus disuntik dengan obat penenang ketamin ketalar over dosis. Setelah tikus pingsan, otot perut disayat hingga batas rongga dada, dan diafragma disayat hingga jantung terlihat. Tulang rusuk dipotong pada perbatasan tulang rawan sebelah kanan dan kiri. Tulang sternum dikuakan ke atas dengan tang arteri. Selanjutnya darah diambil dari jantung untuk analisis profil lipid darah. Kemudian dilakukan pengambilan organ hati untuk analisis SOD dan MDA. Pengambilan organ dilakukan dengan menggunakan gunting steril. Organ hati yang sudah diambil, ditimbang, dibungkus dengan *aluminium foil* dan disimpan beku pada -80°C.

Kadar kolesterol serum tikus ditentukan dengan menggunakan metode *cholesterol oxidase phenol amino phenazone-CHOD-PAP*. Sebanyak 10 µL sampel serum darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan reagen. Serum berasal dari darah yang diambil dari jantung, disimpan di dalam tabung reaksi yang dilapisi EDTA selama 30 menit. Kemudian disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum darah. Sebagai

blanko digunakan 1 mL larutan reagen dan sebagai standar digunakan standar kolesterol 10 µL dan ditambahkan 1 mL reagen. Larutan campuran divorteks, diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang atau 5 menit pada suhu 37°C. Absorbansi larutan dibaca pada λ 500 nm³².

Pengukuran kadar trigliserida dan HDL (*high density lipoprotein*) dilakukan dengan metode *enzymatic calorimetric test glycerol phosphate oxidase phenol amino phenazone (GPO-PAP)*. Pengujian kadar trigliserida ditentukan dengan mereaksikan 10 µL sampel serum darah dengan 1,0 mL reagen. Larutan diinkubasi selama 20 menit (20-25°C) atau 10 menit (37°C). Absorbansi sampel dibaca terhadap blanko reagen pada λ 546 nm³³.

Pengukuran kadar HDL ditentukan dengan mereaksikan 3,0 µL sampel serum darah dengan 300 µL larutan reagen kit lalu divorteks. Sebagai blanko digunakan 1,0 mL reagen. Larutan diinkubasi selama 5 menit (37°C). Absorbansi larutan dibaca pada λ 600 nm³⁴. Perhitungan kadar kolesterol total, trigliserida dan HDL dilakukan melalui rumus:

$$\text{Konsentrasi (mg/dL)} = \frac{\text{Abs Sampel}}{\text{Abs Standar}} \times \text{Konsentrasi Standar}$$

Kadar *low density lipoprotein (LDL)* dihitung menggunakan rumus Friedewald³⁵:

$$\text{LDL} = \text{Kolesterol total} - (\text{Trigliserida}/5\text{-HDL})$$

Analisis aktivitas antioksidan hati meliputi pengukuran aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) dan kadar malonaldehid (MDA) hati. Analisis tersebut diawali dengan penyiapan homogenat hati. Hati sebanyak 1,25 g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 mL larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCl, kemudian disentrifuse pada 1074 g (4000 rpm), 10 menit pada kondisi dingin (4°C) sehingga diperoleh supernatan jernih (homogenat). Homogenat ini digunakan untuk analisis kadar malonaldehid (MDA) dan aktivitas enzim antioksidan superoksida dismutase (SOD).

Pengujian aktivitas enzim SOD dilakukan dengan mereaksikan supernatan jernih hati sebanyak 0,06 mL dengan 2,7 mL buffer natrium-bikarbonat 50 mM yang mengandung 0,1 mM EDTA (pH 10); 0,06 mL xantin 10 mM; 0,03 mL BSA (*Bovine Serum Albumin*) 0,5%; 0,03 mL NBT (*Nitroblue Tetrazolium*) 2,5 mM. Selanjutnya dilakukan penambahan 0,6 mL xantin oksidase (0,04 unit). Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada λ 560 nm dari 0–30 menit dengan interval waktu 5 menit. Absorbansi yang digunakan dalam perhitungan

adalah absorbansi pada menit ke-30. Kontrol yang digunakan adalah larutan 5 mL larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCl. Aktivitas SOD dihitung menggunakan persamaan: $\{1 - (A/B)\} \times 100$; A = Absorbansi larutan sampel, B = Absorbansi larutan kontrol^{36,37,38}.

Pengukuran Kadar Malonaldehid (MDA) hati ditentukan dengan mereaksikan 0,5 mL homogenat hati dengan 2,0 mL HCl dingin (0.25N) yang mengandung 15% TCA (*Trichloroacetic Acid*); 0,38% TBA (*Thiobarbituric Acid*) dan 0,5% BHT (*Butylated Hydroxytoluene*). Campuran dipanaskan 80°C selama 1 jam. Setelah dingin, campuran disentrifugasi pada 3500 rpm (822 g) selama 10 menit. Supernatan diambil dan diukur absorbansi dengan spektrofotometer pada λ 532 nm. Sebagai larutan standar digunakan TEP (tetraetoksipropana)³⁹.

Data dianalisis dengan uji sidik ragam (ANOVA). Jika hasil analisis menunjukkan pengaruh nyata ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji DUNCAN.

HASIL

Konsumsi Pakan

Rerata konsumsi pakan tikus selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1. Konsumsi ransum dalam gram berat basah (g bb) berkisar antara 17,03 – 18,60 g bb. Jumlah pakan yang dikonsumsi tidak berbeda nyata antara kelompok perlakuan ($P > 0,05$). Dari komposisi pakan tersebut rerata tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau yang dikonsumsi oleh masing-masing kelompok tikus berkisar antara 11,75 – 12,83 g bb. Berdasarkan konsumsi tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau, dapat diestimasi konsentrasi polifenol pada ekstrak teh hijau yang dikonsumsi dalam

satuan milligram berat basah (mg bb), yaitu 138 – 208 mg bb (T2) dan 151 – 227 mg bb (T4).

Profil Lipid Serum Darah Tikus

Profil lipid darah tikus disajikan pada Tabel 2 yang terdiri dari kadar kolesterol, trigliserida, HDL dan LDL. Profil lipid darah tikus pada akhir penelitian berkisar antara 42,5 – 55,13 mg/dL untuk kolesterol, 17,5-24,35 mg/dl untuk HDL, 9,6-18,65 mg/dL untuk LDL dan 44,0 – 70,8 mg/dL untuk trigliserida. Hasil pengukuran untuk semua profil lipid darah tikus menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) untuk semua kelompok perlakuan.

Aktivitas Enzim SOD dan MDA Hati Tikus

Data aktivitas enzim SOD dan MDA hati tikus setelah 35 hari diberi ransum tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau dan tapioka asli dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel tersebut terlihat bahwa aktivitas enzim SOD berkisar antara 0,561 – 0,885 U/mg, sedangkan kadar MDA hati berkisar antara 0,025 – 0,090 nmol/mg. Aktivitas enzim SOD pada hati tikus menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($p > 0,05$) pada semua kelompok tikus, namun baik pada tikus normal dan tikus diabetes dengan diet tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau menunjukkan nilai yang sedikit lebih tinggi dibandingkan tikus dengan diet tapioka asli. Kadar MDA hati tikus setelah 35 hari perlakuan juga menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antar kelompok perlakuan. Meskipun terlihat adanya kecenderungan kadar MDA hati tikus yang diberi ransum tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau baik pada tikus diabetes maupun tikus normal lebih rendah dibandingkan yang diberi ransum tapioka asli.

Tabel 1
Rerata Konsumsi Pakan, Tapioka dan Polifenol pada Ekstrak Teh Hijau

Kelompok Perlakuan	Pakan (g bb)	Tapioka termodifikasi 4% ekstrak teh hijau (g bb)	Estimasi kadar polifenol teh hijau yang dikonsumsi (mg bb) *
T1	17.03±1.41	11,75 ^a	-
T2	17.06±1.60	11,77 ^a	138 - 208
T3	17.94±1.50	12,37 ^a	-
T4	18.60±0.87	12,83 ^a	151 - 227

Keterangan: * Ditentukan berdasarkan estimasi penelitian sebelumnya bahwa konsentrasi polifenol pada produk diperkirakan terserap 12,6 – 19%^{40,27} (1 gr ekstrak teh = 2328 mg polifenol)

Tabel 2
Kadar Kolesterol, Trigliserida, HDL, Dan LDL Tikus

Kelompok Perlakuan	Profil Lipid Serum Darah (Mg/Dl)			
	Kolesterol	HDL	LDL	Trigliserida
T1	42.5± 6.0 ^a	17.5± 4.4 ^a	15.4±8.2 ^a	48.0± 7.1 ^a
T2	44.0±11.6 ^a	20.3± 7.6 ^a	9.6±2.9 ^a	70.8± 34.05 ^a
T3	48.5±11.3 ^a	23.0±13.8 ^a	16.7±9.8 ^a	44.0± 5.9 ^a
T4	55.13±9.9 ^a	24.35±10.8 ^a	18.65±1.9 ^a	60.63±15.1 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata (p>0.05)

Tabel 3
Aktivitas Enzim SOD Dan Kadar MDA Hati

Kelompok Perlakuan	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)
T1	0.570±0.24 ^a	0.090±0.09 ^a
T2	0.885±0.40 ^a	0.042±0.05 ^a
T3	0.561±0.15 ^a	0.027±0.01 ^a
T4	0.603±0.15 ^a	0.025±0.01 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata (p > 0.05)

BAHASAN

Pada penelitian ini, pemberian pati tapioka termodifikasi teh hijau 4% tidak signifikan menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, LDL dan MDA serta meningkatkan HDL dan aktivitas enzim SOD (p>0,05). Kadar kolesterol, trigliserida, HDL dan LDL tikus pada hari ke 35 atau minggu ke 5 setelah perlakuan (Tabel 1) menunjukkan nilai normal bahkan cenderung rendah. Pada minggu ke 5 perlakuan tikus berusia 15 minggu. Acuan profil lipid serum tikus jantan Spargue Dawley menurut Ideoha (2013) pada usia 12 – 16 minggu untuk total kolesterol berkisar antara 95,24 – 133,33 mg/dL, trigliserida 50,27 – 130,00 mg/dL, HDL antara 35,00 – 72,20 mg/dL dan LDL 20,28 – 59,98 mg/dL⁴¹. Profil lipid serum yang cenderung lebih rendah dari nilai acuan yang ada kemungkinan disebabkan karena perbedaan kondisi lingkungan dan genetik tikus yang digunakan antara penelitian ini dengan acuan. Data profil lipid dari penelitian ini memiliki keterbatasan dengan tidak diperiksanya profil lipid tikus di awal penelitian. Hal ini menyebabkan tidak diketahuinya perubahan profil lipid darah sebelum dan sesudah perlakuan. Desain awal penelitian ini adalah untuk tikus diabetes sehingga pemeriksaan pra-intervensi diutamakan untuk melihat gula darah. Profil lipid hanya dilihat pasca-intervensi untuk melihat efek perlakuan, terkait keterbatasan dana. Penelitian ini mengacu pada beberapa penelitian

sebelumnya mengenai efek intervensi terhadap profil lipid tikus diabetes yang menggunakan desain pemeriksaan pasca-intervensi dengan asumsi profil lipid sebelum intervensi homogeny^{29,42,43}.

Meskipun aktivitas enzim SOD dan kadar MDA hati tidak berbeda nyata antara kelompok perlakuan, namun terlihat adanya kecenderungan kadar MDA yang lebih tinggi dan enzim SOD yang lebih rendah pada kelompok tikus diabetes dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan kondisi yang umumnya ditemukan pada kondisi diabetes, yaitu selain tingginya konsentrasi glukosa serum, juga ditandai dengan tingginya kadar MDA hati aktivitas enzim SOD yang lebih rendah. Kondisi ini terkait dengan adanya stress oksidatif pada penderita diabetes yang menghasilkan radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas, akan mengakibatkan meningkatnya peroksidasi lipid sehingga meningkatkan produk akhirnya yaitu *Malondialdehyde* (MDA)⁴⁴. Selain itu kondisi hiperglikemik akan meningkatkan produksi radikal bebas yang sangat reaktif yaitu superoksida⁴⁵. Hal ini akan memacu aktivitas enzim SOD untuk mengubah superoksida tersebut menjadi hidrogen peroksida. Oleh karena itu kelebihan hidrogen peroksida akan menyebabkan turunnya aktivitas enzim SOD⁴⁶.

Penelitian terkait khasiat teh hijau dalam memperbaiki profil lipid darah penderita diabetes mellitus telah banyak dilakukan. Salah

satu meta analisis mengenai efek ekstrak teh hijau terhadap profil lipid darah pasien diabetes tipe 2 telah dilakukan oleh Asbaghi *et al.* (2020). Meta analisis tersebut menyimpulkan bahwa konsumsi ekstrak teh hijau dapat memperbaiki profil lipid darah pasien diabetes tipe 2 dengan mengurangi konsentrasi serum trigliserida dan kolesterol. Suplementasi ekstrak teh hijau lebih dari 8 minggu dengan dosis lebih 800 mg/hari, secara signifikan menurunkan serum trigliserida, sedangkan dosis kurang dari 800 mg/hari secara signifikan menurunkan total kolesterol serum. Namun pada kedua dosis tersebut belum memberikan dampak signifikan terhadap konsentrasi LDL dan HDL serum¹⁶. Meskipun demikian, kontroversi kemampuan ekstrak teh hijau dalam menurunkan serum kolesterol dan trigliserida darah juga ditunjukkan oleh penelitian lain. Beberapa peneliti menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau belum mampu untuk menurunkan kadar serum kolesterol darah⁴⁷.

Modifikasi produk pangan dengan ekstrak teh hijau sebagai pangan fungsional diet khusus masih sangat terbatas. Penelitian lain yang sudah ada diantaranya adalah modifikasi beras instan pratanak dan beras ekstrusi. Namun penelitian itupun masih terbatas pada kemampuan anti diabetiknya. Pada penelitian tersebut modifikasi dilakukan dengan proses perendaman beras dalam 4 persen ekstrak teh hijau. Dari hasil penelitian diketahui bahwa polifenol yang terserap dalam beras hanya berkisar antara 12,6 – 19 persen^{27,40}. Jika diasumsikan besaran persentase serapan polifenol tersebut pada produk tapioka termodifikasi maka jumlah kandungan polifenol pada ekstrak teh hijau yang dikonsumsi oleh tikus berkisar antara 138 – 227 mg bb.

Pada penelitian lain dosis ekstrak teh hijau 200 mg dan 400 mg per Kg berat badan yang masing-masing diekstrak dengan pelarut etanol 90 dan 70 persen terbukti secara signifikan dapat menurunkan total kolesterol pada tikus diabetes^{29,17}. Sementara itu penelitian lain menunjukkan bahwa dengan pemberian 560 mg polifenol ekstrak teh hijau mencegah pengurangan aktivitas enzim SOD pada pasien diabetes^{15,48}.

Kemampuan anti dislipidemia dan antioksidan ekstrak teh hijau yang tidak konsisten dalam penelitian ini kemungkinan berkaitan dengan perbedaan tingkat kemurnian polifenol dan komposisi polifenol yang terkandung di dalamnya. Kemurnian dan jenis polifenol dalam ekstrak teh hijau sangat berpengaruh terhadap kemampuan anti dislipidemia dan antioksidannya^{49,50}. Penelitian

lain melaporkan bahwa pemberian ransum tikus yang disuplementasi dengan EGCC (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCC) sebagai salah satu polifenol utama teh hijau yang dimurnikan atau diisolasi dari teh hijau sebanyak 500 mg/Kg terbukti mampu menurunkan obesitas melalui mekanisme pengurangan penyerapan energi dan peningkatan oksidasi lemak⁵¹. Pemberian EGCC sebanyak 3,2 g/kg diet selama 16 minggu pada tikus yang diberi ransum tinggi lemak dilaporkan mampu menurunkan secara signifikan resistensi insulin, plasma kolesterol, konsentrasi protein *monocyte chemoattractant*, berat hati, konsentrasi trigliserida hati, dan plasma *alanine aminotransferase*⁵². Kadar polifenol dan kemampuan antioksidatif ekstrak teh hijau tergantung pada kondisi ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Pelarut etanol diketahui merupakan pelarut yang paling efektif dalam mengekstrak polifenol terutama katekin dari teh hijau⁵³.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah tidak diketahuinya kadar kemurnian dan jenis polifenol dari ekstrak teh hijau yang terikat dalam tapioka termodifikasi. Proses ekstraksi teh hijau dengan pelarut air kemungkinan menghasilkan polifenol yang tidak terekstrak secara maksimal.

KESIMPULAN

Pemberian pati tapioka termodifikasi teh hijau 4 persen, 58-62 °Brix tidak signifikan menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, LDL dan MDA serta meningkatkan HDL dan aktivitas enzim SOD ($p > 0,05$). Tikus percobaan memiliki rerata kadar profil lipid darah 9,6 – 70,8 mg/dL, aktivitas enzim SOD 0,561-0,885 U/mg dan kadar malonaldehid 0,025 – 0,090 nmol/mg. Tikus percobaan memiliki profil lipid darah normal, bahkan cenderung rendah. Pati tapioka termodifikasi teh hijau 4 persen, 58-62 °Brix belum terbukti efektif memperbaiki profil lipid darah dan aktivitas antioksidan tikus diabetes.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut untuk menentukan kadar ekstrak teh hijau yang optimal untuk pati tapioka termodifikasi yang efektif memperbaiki profil lipid dan antioksidan tikus diabetes. Perlu dilakukan pengukuran profil lipid pada awal dan akhir perlakuan untuk melihat perubahan profil lipid. Potret histologi hati perlu dilihat untuk mendapatkan gambaran kemampuan antioksidan pati termodifikasi teh hijau. Konsentrasi polifenol dalam pati termodi-

fikasi perlu dianalisis dan dikarakterisasi jenisnya.

RUJUKAN

- Bolla K, Sri.K.V S, Varalakshmi K. Diabetes Mellitus & Its Prevention. *Int J Sci Technol Res* [Internet]. 2015;4(08):119-125 [cited Jun 13, 2022]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29002157%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5143110>
- Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013.
- Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018.
- International Diabetes Federation [IDF]. *IDF Diabetes Atlas 10TH edition*, vol. 102: Diabetes Research and Clinical Practice. 2021. 147–148. [cited Jun 13, 2022]. Available from: https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf
- Kane JP, Pullinger CR, Goldfine ID, Malloy MJ. Dyslipidemia and diabetes mellitus: Role of lipoprotein species and interrelated pathways of lipid metabolism in diabetes mellitus. *Curr Opin Pharmacol*. 2021; 61:21–7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2021.08.013>
- Zhang P, Li T, Wu X, Nice EC, Huang C, Zhang Y. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Front Med*. 2020;14(5):583–600.
- Yadav MK, Kumar P, Sharma P, Mohapatra TK. Evaluation of dyslipidemia and oxidative stress in type II diabetes patients. *J Datta Meghe Inst Med Sci Univ*. 2020;15(3):448–53.
- Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2009 Mar;5(3):150–9.
- Nishikawa T, Edelstein D, Du X, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, *et al*. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. 2000;404:787–90. [cited Jun 12, 2022]. Available from: <https://www.nature.com/articles/35008121>
- Tsang CK, Liu Y, Thomas J, Zhang Y, Zheng XFS. Superoxide dismutase 1 acts as a nuclear transcription factor to regulate oxidative stress resistance. *Nat Commun*. 2014;5(3446):1–11. doi: 10.1038/ncomms4446.
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;1–31.
- Tang W, Li S, Liu Y, Huang MT, Ho CT. Anti-diabetic activity of chemically profiled green tea and black tea extracts in a type 2 diabetes mice model via different mechanisms. *J Funct Foods*. 2013; 5(4):1784–93. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.007>
- Fu QY, Li QS, Lin XM, Qiao RY, Yang R, Li XM, *et al*. Antidiabetic effects of tea. *Molecules*. 2017;22(5):1–19.
- Benelli R, Venè R, Bisacchi D, Garbisa S, Albini A. Anti-invasive effects of green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG), A natural inhibitor of metallo and serine proteases. *Biol Chem*. 2002;383(1): 101–5.
- Abolfathi AA, Mohajeri D, Rezaie A, Nazeri M. Protective effects of green tea extract against hepatic tissue injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2012;2012:1–10.
- Asbaghi O, Fouladvand F, Moradi S, Ashtary-Larky D, Choghakhori R, Abbasnezhad A. Effect of green tea extract on lipid profile in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. 2020;14(4):293–301. doi: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.03.018>
- Sarel Z, Simanjuntak K. Pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap penurunan kadar kolesterol total tikus wistar (*Rattus norvegicus*) diabetes induksi aloksan. *J Sehat Mandiri*. 2020;15(1):98–111.
- Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and The Prevention of Chronic Diseases. *World Health Organization - Technical Report Series*. Geneva, Switzerland: WHO, 2003.
- Indonesia, Kementerian Ketenagakerjaan RI. *Keputusan Menteri Ketenagakerjaan RI nomor 104 tahun 2016 tentang penetapan standar kompetensi kerja nasional indonesia kategori industri pengolahan golongan pokok industri makanan bidang pengolahan tapioka*. Jakarta: Kementerian Ketenagakerjaan RI, 2016.
- Shittu TA, Alimi BA, Wahab B, Sanni LO,

- Abass AB. Cassava Flour and Starch: Processing Technology and Utilization. First Edit. In: Sharma HK, Njintang NY, Singhal RS, Kaushal P, editors. *Tropical roots and tubers: production, processing and technology*. West Sussex, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2016. 415–450 p.
21. Fadilah N. Pengaruh pengolahan dan penyimpanan mi instan berbahan asar terigu-tepung singkong-tapioka serta penambahan cmc (carboxymethyl cellulose) terhadap daya cerna pati secara in vitro. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2004.
 22. FAO/WHO. Carbohydrates in human nutrition: FAO Food and Nutrition Paper - 66. [cited Sept 12, 2022]. ROME; 1998. Available from: <https://www.fao.org/3/w8079e/w8079e0k.htm#TopOfPage>
 23. Julianti ED, Nurjanah N, Yuniati H, Ridwan E, Sahara E. Pengaruh tapioka termodifikasi ekstrak teh hijau terhadap glukosa darah dan histologi pankreas tikus diabetes. *Penel Gizi Makan*. 2015;38(1): 51–60.
 24. Nurjanah N, Mahani, Mughtadi D, Palupi NS, Widowati S. Chemical characteristics and glycemic index of processed products from corn starch modified with green tea polyphenols. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2020;443(1):1–11.
 25. Oh J-H, Lee C-Y, Kim J-E, Kim W-H, Seo J-W, Lim T-G, et al. Effect of Characterized Green Tea Extraction Methods and Formulations on Enzymatic Starch Hydrolysis and Intestinal Glucose Transport. *J Agric Food Chem*. 2021;69(50):15208–17. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c05931>
 26. Association of Official Analytical and Chemist [AOAC]. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16th ed. Arlington, Virginia: AOAC International; 1995.
 27. Widowati S. Pemanfaatan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* O.Kuntze) dalam pengembangan beras fungsional untuk penderita diabetes melitus. *Disertasi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2007.
 28. Rahmawati G, Rachmawati FN, Winarsi H. Aktivitas superoksida dismutase tikus diabetes yang diberi ekstrak batang kapulaga dan glibenklamid. *Scr Biol*. 2014;1(3):197–201.
 29. Haidari F, Shahi MM, Zarei M, Rafiei H, Omidian K. Effect of green tea extract on body weight, serum glucose and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats: A dose response study. *Saudi Med J*. 2012;33(2):128–33.
 30. Di Naso FC, Simoes Dias A, Porawski M, Marroni NAP. Exogenous superoxide dismutase: action on liver oxidative stress in animals with streptozotocin-induced diabetes. *Exp Diabetes Res*. 2011;2011: 1-6. doi:10.1155/2011/754132
 31. Sharifzadeh M, Ranjbar A, Hosseini A, Khanavi M. The effect of green tea extract on oxidative stress and spatial learning in streptozotocin-diabetic rats. *Iran J Pharm Res*. 2017;16(1):201–9.
 32. Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W FP. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*. 1974;20(4): 470–5.
 33. Megraw RE, Dunn DE, HG B. Manual and continuous-flow colorimetry of triacylglycerols by a fully enzymic method. *Clin Chem*. 1979;25(2):273-278.
 34. Stein E, Myers G. Lipid, lipoprotein and apolipoprotein. In: Burtis C, Ashwood A, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 2nd ed. Missouri, UK: Mosby Co; 1994. p. 1002–93.
 35. Friedewald WT, Levy RI FD. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499–502.
 36. Kubo I, Masuoka N, Xiao P, Haraguchi H. Antioxidant activity of dodecyl gallate. *J Agric Food Chem*. 2002;50(12):3533–9.
 37. Wijeratne SSK, Cuppett SL. Lipid hydroperoxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in Caco-2 human colon cells. *J Agric Food Chem*. 2006;54(12):4476–81.
 38. Prangdimurti E. Kapasitas Antioksidan dan daya hipokolesterolemik ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia* N.E. Brown). *Disertasi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2007.
 39. Singh RP, Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J Agric Food Chem*. 2002;50(1):81–6.
 40. Meutia. Pengaruh penambahan ekstrak teh hijau pada pengolahan beras ekstrusi terhadap penurunan indeks glikemik. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2013.
 41. Ihedioha JI, Noel-Uneke OA, Ihedioha TE. Reference values for the serum lipid profile of albino rats (*Rattus norvegicus*) of varied ages and sexes. *Comp Clin Path*. 2013;22(1):93–9.

42. Andallu B, Vinay Kumar A, Varadacharyulu N. Lipid abnormalities in streptozotocin-diabetes: Amelioration by morus indica L. cv Suguna leaves. *Int J Diabetes Dev Ctries.* 2009;29(3):123–8.
43. Almeida DAT, Braga CP, Novelli ELB, Fernandes AAH. Evaluation of lipid profile and oxidative stress in STZ-induced rats treated with antioxidant vitamin. *Brazilian Arch Biol Technol.* 2012;55(4):527–36.
44. Asha K, Singal A, Sharma SB, Arora VK, Aggarwal A. Dyslipidaemia & oxidative stress in patients of psoriasis: Emerging cardiovascular risk factors. *Indian J Med Res.* 2017;146(6):708–13. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_717_16
45. Gupta S, Chough E, Daley J, Oates P, Tornheim K, Ruderman NB, et al. Hyperglycemia increases endothelial superoxide that impairs smooth muscle cell Na⁺-K⁺-ATPase activity. *Am J Physiol - Cell Physiol.* 2002;282(3 51-3):560–6.
46. Bray RC, Cockle SA, Fielden E, Roberts PB, Rotilio G, Calabrese L. Reduction and inactivation of superoxide dismutase by hydrogen peroxide. *Biochem J.* 1974;139(1):43–8.
47. Quezada-Fernández P, Trujillo-Quiros J, Pascoe-González S, Trujillo-Rangel WA, Cardona-Müller D, Ramos-Becerra CG, et al. Effect of green tea extract on arterial stiffness, lipid profile and sRAGE in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Int J Food Sci Nutr.* 2019;70(8):977–85. doi: <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1589430>
48. Vaz SR, de Amorim LMN, de Nascimento PVF, Veloso VSP, Nogueira MS, Castro IA, et al. Effects of green tea extract on oxidative stress and renal function in diabetic individuals: A randomized, double-blinded, controlled trial. *J Funct Foods.* 2018;46(May):195–201. doi://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.059
49. Bornhoeft J, Castaneda D, Nemoseck T, Wang P, Henning SM, Hong MY. The protective effects of green tea polyphenols: Lipid profile, inflammation, and antioxidant capacity in rats fed an atherogenic diet and dextran sodium sulfate. *J Med Food.* 2012;15(8):726–32.
50. Azis FDA, Nurhayati R, Suharjo. Consumption of green tea as anti-dyslipidemia agent and obesity prevention: a systematic review. *Proceedings of International Conference on Applied Pharmaceutical Sciences (ICoAPS)*, 2018. [cited July 12, 2022]. Available from: <https://ssrn.com/abstract=3467492>
51. Klaus S, Pültz S, Thöne-Reineke C, Wolfram S. Epigallocatechin gallate attenuates diet-induced obesity in mice by decreasing energy absorption and increasing fat oxidation. *Int J Obes.* 2005;29(6):615–23.
52. Bose M, Lambert JD, Ju J, Reuhl KR, Shapses SA, Yang CS. The major green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, inhibits obesity, metabolic syndrome, and fatty liver disease in high-fat-fed mice,1,2. *J Nutr.* 2008;138(9):1677–83.
53. Rusak G, Komes D, Likić S, Horžić D, Kovač M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chem.* 2008;110(4):852–8.