

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Perumusan Masalah.....	5
I.3 Tujuan Penelitian.....	6
I.4 Keaslian Penelitian.....	7
I.5 Manfaat Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Tinjauan Pustaka.....	10
II.1.1 Inflamasi Kronik <i>Low-grade</i> pada Obesitas.....	10
II.1.2 Mekanisme Molekular Resistensi Insulin.....	12
II.1.3 <i>Cell line</i>	14
II.1.3.1 Differensiasi Sel 3T3-L1.....	14
II.1.3.2 Sel Makrofag RAW 264.7 model inflamasi.....	16
II.1.3.3 Co-culture antara sel RAW 264.7 model inflamasi dan sel adiposa 3T3-L1.....	17
II.1.4 Pegagan (<i>Centella asiatica</i> L.).....	18
II.1.5 RT-PCR (qPCR).....	20
II.2 Landasan Teori.....	22
II.3 Kerangka Konsep.....	25
II.4 Hipotesis.....	26
BAB III METODE PENELITIAN	
III.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	27
III.2 Variabel Penelitian.....	27
III.3 Definisi Operasional.....	28
III.4 Bahan dan Alat Penelitian.....	30
III.5 Alur Penelitian.....	32
III.6 Jalannya Penelitian.....	32
III.6.1 Pengukuran <i>Asiatic acid</i> pada Ekstrak <i>Centella asiatica</i> L.....	33
III.6.2 Thawing dan Perbanyak Sel 3T3-L1 dan RAW 264.7.....	34
III.6.3 Preparasi sampel.....	35

III.6.4 Uji Viabilitas sel 3T3-L1 dan RAW 264.7	35
III.6.5 Uji Efek Ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. dan Metformin Terhadap Sensitivitas Insulin Sel Adiposa 3T3-L1 dibawah Pengaruh Sel Makrofag RAW 264.7 Terinflamasi	36
III.6.5.1 Preparasi LPS.....	36
III.6.5.2 Coating Sumuran 6 well plate.....	37
III.6.5.3 Differensiasi Sel pre-adiposa 3T3-L1	37
III.6.5.4 Ko-kultur Sel Adiposa 3T3-L1 dengan Sel RAW 264.7 Terinflamasi	38
III.6.5.5 Pengukuran Kadar Konsumsi Glukosa.....	40
III.6.5.6 Uji kuantifikasi ekspresi mRNA IL6, IRS-1 dan GLUT4	41
III.6.5.7 Uji Kadar Nitrit Oksida	43
III.7 Analisis Data	43
III.7.1 Pengukuran Kadar <i>Asiatic acid</i>	43
III.7.2 Uji Viabilitas sel 3T3-L1 dan sel RAW 264.7	44
III.7.3 Analisa Kadar konsumsi glukosa.....	44
III.7.4 Analisa Ekspresi mRNA IL-6, GLUT-4 dan IRS-1	45
III.7.5 Uji Kadar Nitrit Oksida	46

BAB IV HASIL dan PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian.....	47
IV.1.1 Analisa Kadar <i>Asiatic Acid</i> pada Ekstrak <i>Centella asiatica</i> L.	47
IV.1.2 Analisa Uji Viabilitas pada sel 3T3-L1 dan sel RAW 264.7	47
IV.1.3 Analisa Efek Ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. Terhadap Sensitivitas Insulin Pada Kokultur Sel Adiposa 3T3-L1 dan Sel Makrofag RAW 264.7 Terinflamasi	49
IV.1.3.1 Analisa Parameter Keberhasilan Pemodelan Resistensi Insulin	52
IV.1.3.1.1 Analisa Kadar Konsumsi Glukosa	52
IV.1.3.1.2 Analisa Ekspresi mRNA GLUT-4, IRS-1 IL-6	54
IV.1.3.1.2.1 Analisa Ekspresi mRNA GLUT4	54
IV.1.3.1.2.2 Analisa Ekspresi mRNA IRS-1	56
IV.1.3.1.2.3 Analisa Ekspresi mRNA IL-6	57
IV.1.3.1.3 Analisa Kadar NO	59
IV.1.3.2 Analisa Parameter Uji Efek Sensitivitas Insulin Ekstrak <i>Centella asiatica</i> L.	60
IV.1.3.2.1 Analisa Kadar Konsumsi Glukosa.....	61
IV.1.3.2.2 Analisa Ekspresi mRNA GLUT-4.....	62
IV.1.3.2.3 Analisa Ekspresi mRNA IRS-1	63
IV.1.3.2.4 Analisa Ekspresi mRNA IL-6	64
IV.1.3.2.5 Analisa Kadar NO	65
IV.2 Pembahasan	66

BAB V KESIMPULAN dan SARAN	
V.1 Kesimpulan.....	78
V.2 Saran.....	79
V.3 Ringkasan Penelitian	80
DAFTAR PUSTAKA	88
LAMPIRAN.....	94

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme molekular resistensi insulin terkait obesitas.....	14
Gambar 2. Tanaman dan Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> . L.....	18
Gambar 3. Alur penelitian.....	32
Gambar 4. Grafik persentase sel hidup 3T3-L1 dan RAW 264.7 setelah 24 jam pemberian ekstrak <i>Centella asiatica</i> L.....	49
Gambar 5. Pembentukan droplet lipid sel 3T3-L1 pada hari ke 8 setelah penambahan agen penginduksi.....	50
Gambar 6. Perubahan morfologi sel RAW 264.7 sebelum dan sesudah dilakukan ko-kultur dengan sel adiposa 3T3-L1.....	51
Gambar 7. Konsentrasi glukosa kelompok kontrol sel adiposa dibandingkan dengan kelompok kokultur terinduksi LPS.....	53
Gambar 8. Nilai <i>fold change</i> ekspresi mRNA GLUT-4 kelompok kontrol kokultur terinduksi LPS terhadap kontrol sel tanpa kokultur.....	55
Gambar 9. Nilai <i>fold change</i> ekspresi mRNA IRS-1 kelompok kontrol kokultur terinduksi LPS terhadap kontrol sel tanpa kokultur.....	57
Gambar 10. Nilai <i>fold change</i> ekspresi mRNA IL-6 kelompok kontrol kokultur terinduksi LPS terhadap kontrol sel tanpa kokultur.....	58
Gambar 11. Persentase kadar nitrit oksida kelompok kontrol kokultur terinduksi LPS terhadap kontrol sel tanpa kokultur.....	59
Gambar 12. Konsentrasi glukosa medium kelompok ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. pada kelompok kontrol sel kokultur terinduksi LPS dan kelompok ekstrak	61
Gambar 13. Nilai <i>fold change</i> ekspresi mRNA GLUT-4 kelompok ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. terhadap kontrol kokultur terinduksi LPS.....	63
Gambar 14. Nilai <i>fold change</i> ekspresi mRNA IRS-1 ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. terhadap kontrol kokultur terinduksi LPS.....	64
Gambar 15. Nilai <i>fold change</i> ekspresi mRNA IL-6 ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. terhadap kontrol kokultur terinduksi LPS.....	65
Gambar 16. Persentase kadar nitrit oksida tiap ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. terhadap kontrol kokultur terinduksi LPS.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penelitian sebelumnya mengenai potensi ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. sebagai agen anti-diabetes dan anti-infamasi.....	8
Tabel 2. Primer IL-6, IRS-1, GLUT-4 dan B-actin untuk qRT-PCR.....	31
Tabel 3. Rata-rata persentase viabilitas sel 3T3-L1 dan RAW 264.7 terhadap ekstrak <i>Centella asiatica</i> L.	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	<i>Ethical Clearance</i>	94
Lampiran 2.	<i>Certificate of Analysis (CoA) Ekstrak Centella asiatica L.</i>	95
Lampiran 3.	Kromatogram Pengukuran Kadar <i>Asiatic Acid</i> pada Ekstrak <i>Centella asiatica L.</i>	98
Lampiran 4.	<i>Kurva Standar Larutan Glukosa</i>	80
Lampiran 5.	<i>Kurva Standar Sodium Nitrit</i>	101
Lampiran 6.	Uji normalitas kadar konsumsi glukosa tiap kelompok dengan <i>Saphiro-Wilk</i>	101
Lampiran 7.	Uji komparasi kadar konsumsi glukosa antara kelompok kontrol sel tanpa kokultur dengan kelompok kokultur terinduksi LPS menggunakan <i>independent sample t-test</i>	102
Lampiran 8.	Uji komparatif kadar konsumsi glukosa kelompok kokultur terinduksi LPS, ekstrak <i>Centella asiatica L.</i> menggunakan uji <i>One-Way ANOVA Multivariat Post-hoc Bonferroni</i>	102
Lampiran 9.	Uji normalitas nilai <i>fold change</i> mRNA GLUT-4 antara kelompok kontrol sel tanpa kokultur dan kelompok kontrol kokultur terinduksi LPS menggunakan <i>Saphiro-Wilk</i>	103
Lampiran 10.	Uji komparasi <i>fold change</i> mRNA GLUT-4 antara kelompok kontrol sel tanpa kokultur dengan kelompok kokultur terinduksi LPS menggunakan uji <i>independent sample t-test</i>	104
Lampiran 11.	Uji normalitas nilai <i>fold change</i> mRNA GLUT-4 kelompok Ekstrak <i>Centella asiatica L.</i> menggunakan <i>Saphiro-Wilk</i>	104
Lampiran 12.	Uji komparasi nilai <i>fold change</i> mRNA GLUT-4 kelompok Ekstrak <i>Centella asiatica L.</i> menggunakan uji statistik <i>One-Way ANOVA multivariat post-hoc Bonferroni</i>	104
Lampiran 13.	Uji normalitas nilai <i>fold change</i> mRNA IRS-1 antara kelompok kontrol sel tanpa kokultur dan kelompok kontrol kokultur terinduksi LPS menggunakan <i>Saphiro-Wilk</i>	105
Lampiran 14.	Uji komparasi <i>fold change</i> mRNA IRS-1 antara kelompok kontrol sel tanpa kokultur dengan kelompok kokultur terinduksi LPS menggunakan uji <i>independent sample t-test</i>	106
Lampiran 15.	Uji normalitas nilai <i>fold change</i> mRNA IRS-1 kelompok ekstrak <i>Centella asiatica L.</i> menggunakan <i>Saphiro-Wilk</i>	106
Lampiran 16.	Uji komparasi nilai <i>fold change</i> mRNA IRS-1 kelompok ekstrak <i>Centella asiatica L.</i> menggunakan uji statistic <i>One-Way</i> <i>ANOVA multivariat post-hoc Bonferroni</i>	106
Lampiran 17.	Uji normalitas nilai <i>fold change</i> mRNA IL-6 antara kelompok kontrol sel tanpa kokultur dan kelompok kontrol kokultur terinduksi LPS menggunakan <i>Saphiro-Wilk</i>	107
Lampiran 18.	Uji komparasi <i>fold change</i> mRNA IL-6 antara kelompok	

	kontrol sel tanpa kokultur dengan kelompok kokultur terinduksi LPS menggunakan uji <i>independent sample t-test</i>	108
Lampiran 19.	Uji normalitas nilai <i>fold change</i> mRNA IL-6 kelompok ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. menggunakan <i>Saphiro-Wilk</i>	108
Lampiran 20.	Uji komparasi nilai <i>fold change</i> mRNA IL-6 kelompok ekstrak <i>Centella asiatica</i> L. menggunakan uji statistic One-Way ANOVA multivariat <i>post-hoc Bonferroni</i>	108
Lampiran 21.	Uji normalitas persentase kadar NO tiap kelompok menggunakan <i>Saphiro-Wilk</i>	109
Lampiran 22.	Uji komparasi persentase kadar NO pada tiap kelompok menggunakan uji statistik <i>One-Way ANOVA multivariat</i> <i>post-hoc Bonferroni</i>	110