



**PENGARUH TEH HIJAU TERHADAP
JUMLAH LEUKOSIT MENCIT BALB/c
YANG DIBERI METOTREKSAT**

ARTIKEL ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program
Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Oleh :

**ADRIANA LUKMASARI
G2A002003**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2006**

LEMBAR PENGESAHAN
ARTIKEL ILMIAH
PENGARUH TEH HIJAU TERHADAP
JUMLAH LEUKOSIT MENCIT BALB/c
YANG DIBERI METOTREKSAT

Yang telah dipersiapkan dan disusun oleh

Nama : Adriana Lukmasari

NIM : G2A002003

Telah dipertahankan di hadapan tim penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 2 Agustus 2006 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran – saran yang diberikan.

Tim Penguji

Penguji,

dr. Tri Indah Winarni

NIP. 132 163 892

Dosen Pembimbing,

dr. Pudjadi, SU

NIP.130 530 278

Ketua Penguji,

dr. Andrew Johan, Msi

NIP. 131 673 427

THE EFFECT OF GREEN TEA TO THE TOTAL LEUCOCYTE COUNT OF METHOTREXATE EXPOSED BALB/c MICE

Adriana Lukmasari ¹⁾, Pudjadi ²⁾

ABSTRACT

Background : *The side effect of methotrexate is hematopoetic depression that can be seen in declining of total leucocyte count. This study was aimed to prove that green tea can increase total leucocyte count of methotrexate exposed Balb/c mice.*

Method : *This was an experimental study using posttest only control group design. Sample consisted of 15 Balb/c mice, divided randomly into 3 groups. Control group was only fed with standard dietary. Treatment group 1 was given 0,065 mg methotrexate for 5 days. Treatment group 2 was given 46,8 mg green tea for 25 days and 0,065 mg methotrexate for 5 days.*

Result : *The study showed that there was not significant difference from total leucocyte count of three experiment groups.*

Conclusion : *Green tea is not proven to increase total leucocyte count of 0,065 mg per day methotrexate exposed Balb/c mice.*

Keyword : *methotrexate, green tea catechin, total leucocyte count*

1) *Student of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang*

2) *Lecture Staff of Biochemistry Department, Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang*

PENGARUH TEH HIJAU TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT MENCIT BALB/c YANG DIBERI METOTREKSAT

Adriana Lukmasari ¹⁾, Pudjadi ²⁾

ABSTRAK

Latar Belakang : Metotreksat memiliki efek samping yang berbahaya yaitu menekan proses hematopoiesis sehingga terjadi penurunan jumlah leukosit. Teh hijau memiliki komponen aktif berupa katekin. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa teh hijau dapat meningkatkan jumlah leukosit mencit Balb/c yang diberi metotreksat.

Metoda : Penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan *Posttest Only Control Group Design*. Sampel terdiri dari 15 mencit Balb/c, dibagi menjadi 3 kelompok secara random. Kelompok kontrol hanya mendapat pakan standar. Kelompok Perlakuan 1 diberi metotreksat 0,065 mg selama 5 hari. Perlakuan 2 diberi teh hijau 46,8 mg selama 25 hari dan metotreksat 0,065 mg selama 5 hari.

Hasil : Penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah leukosit mencit Balb/c ketiga kelompok penelitian.

Kesimpulan : Teh hijau tidak terbukti meningkatkan jumlah leukosit mencit Balb/c yang diberi metotreksat dengan dosis 0,065 mg per hari.

Kata kunci : metotreksat, katekin teh hijau, jumlah leukosit

1) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

2) Staf Pengajar Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

PENDAHULUAN

Metotreksat merupakan obat sitostatika yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam keganasan meliputi osteosarkoma, limfoma non – Hodgkin, kanker kepala dan leher, kanker paru dan kanker payudara. Mekanisme aksi metotreksat adalah dengan menghambat dihidrofolat reduktase^{1,2}. Dihidrofolat reduktase adalah enzim yang berfungsi dalam mereduksi dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat digunakan sebagai karier untuk membawa satu unit karbon dalam sintesis nukleotida purin dan timidilat, sehingga metotreksat berpengaruh pada sintesis DNA. Jaringan – jaringan yang berproliferasi secara aktif seperti sel kanker, sumsum tulang dan lain – lain sangat sensitif terhadap efek metotreksat. Dengan demikian, pemakaian metotreksat sebagai terapi keganasan mempunyai efek samping yang cukup membahayakan yaitu terjadi penekanan pada proses hematopoiesis^{3,4,5}. Penekanan pada proses hematopoiesis akan mempengaruhi produksi leukosit. Hal tersebut dapat dilihat dengan penurunan jumlah leukosit di sirkulasi darah tepi.

Leukosit dibentuk melalui leukopoesis⁶. Leukopoesis merupakan bagian dari hematopoiesis. Leukosit berfungsi sebagai alat pertahanan tubuh terhadap masuknya benda asing. Mekanisme fagositosis dan pembentukan imunoglobulin juga diperankan oleh leukosit. Penurunan jumlah leukosit (leukopenia) menyebabkan pertahanan tubuh menjadi turun sehingga menjadi faktor predisposisi terhadap infeksi yang dapat mengancam kehidupan^{7,8}. Gejala yang biasa dijumpai antara lain demam, kelemahan, sepsis dan bahkan kematian.

Teh merupakan tanaman daerah tropis dan subtropis yang secara ilmiah dikenal dengan nama *Camellia sinensis*. Terdapat tiga macam jenis teh yaitu teh hijau, teh hitam dan teh oolong^{9,10}. Ketiganya dibedakan berdasarkan proses pengolahannya.

Teh hijau sangat sedikit mengalami proses pengolahan, daun teh yang dipetik hanya dipanaskan dan dikeringkan tanpa melalui proses fermentasi sehingga warna hijau daun dapat dipertahankan.

Kunci utama dari khasiat teh hijau berada pada komponen bioaktifnya yaitu katekin^{10,11,12}. Katekin memiliki sifat tidak berwarna, larut dalam air, mudah teroksidasi dan membawa sifat pahit pada seduhan teh. Katekin teh terdiri dari *epicatechin* (EC), *epicatechin gallate* (ECG), *epigallocatechin* (EGC), *epigallocatechin gallate* (EGCG)⁹⁻¹³.

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa katekin yang berasal dari *Spatholobus suberectus dunn* dapat memacu proses hematopoiesis. Katekin akan memacu *Granulocyte – Macrophage Colony – Stimulating Factor* (GM – CSF) dan *Interleukin – 6* (IL – 6), kemudian mempertahankannya dalam level yang stabil¹⁴. Meningkatnya aktivitas GM – CSF dan IL – 6 tersebut akan mempengaruhi proliferasi dan diferensiasi sel – sel sumsum tulang dalam hematopoiesis.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa teh hijau dapat meningkatkan jumlah leukosit mencit Balb/c yang diberi metotreksat.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan yang dapat dipergunakan untuk penelitian selanjutnya, dan menjadi bahan pertimbangan untuk dapat diterapkan pada penderita penyakit keganasan yang mendapatkan terapi metotreksat sehingga mengurangi resiko terjadinya infeksi akibat turunnya jumlah leukosit.

METODA PENELITIAN

Ruang lingkup keilmuan pada penelitian ini adalah Ilmu Biokimia dan Imunologi. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia FK UNDIP Semarang dimulai pada bulan Agustus 2005 hingga bulan Mei 2006.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *Posttest Only Control Group Design* dan menggunakan binatang percobaan mencit galur Balb/c sebagai objek penelitian.

Penentuan besar sampel penelitian diperoleh berdasarkan kriteria *World Health Organization* dalam *Research Guideline for Evaluating The Safety and Efficacy of Herbal Medicine*¹⁵. Sampel yang digunakan adalah 5 ekor mencit Balb/c tiap kelompok yang memenuhi kriteria inklusi yaitu berumur 6 – 8 minggu, jantan, berat badan 20 – 30 gram dan dalam kondisi sehat. Sedangkan kriteria eksklusinya adalah mencit mati selama penelitian berlangsung. Sampel tersebut dibagi dalam 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2).

Variabel dalam penelitian ini meliputi teh hijau sebagai variabel bebas, metotreksat sebagai variabel perantara dan jumlah leukosit sebagai variabel tergantung.

Alat yang digunakan meliputi sonde lambung 0,5 cc, mortir dan stamper, tabung reaksi, pipet kapiler, kandang mencit, timbangan elektrik, gelas ukur dan Autoanalyzer Cell Dyn 3700. Bahan yang digunakan meliputi teh hijau merk 2 Tang yang banyak di pasaran dan diproduksi oleh PT. DUTA SERPACK INTI Tangerang Indonesia, metotreksat yang diperoleh dari apotek Sana Farma, pakan mencit standar 511, sampel darah dan EDTA.

Sampel terdiri dari 15 ekor mencit yang dibagi secara random menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1) dan perlakuan 2 (P2). Seluruh mencit diaklimatisasi selama 7 hari, hanya diberi pakan standar 511 dan minum yang sama. Setelah 1 minggu, kelompok kontrol (K) tetap mendapat pakan standar dan minum yang sama namun tidak diberi perlakuan. Pada kelompok perlakuan 1 (P1), mencit tetap mendapat pakan standar dan diberi metotreksat secara oral dengan menggunakan sonde lambung dengan dosis 0,065 miligram per hari secara oral pada hari ke – 27 sampai hari ke – 31. Dosis tersebut diperoleh dengan melakukan konversi dari dosis metotreksat pada manusia yang dapat menimbulkan depresi sumsum tulang kepada mencit. Angka konversi yang digunakan adalah $0,0026^{16}$. Pada kelompok perlakuan 2 (P2), mencit tetap mendapat pakan standar, kemudian mulai hari ke – 8 sampai hari ke – 32 mencit diberikan pula teh hijau dengan dosis 46,8 miligram per hari secara oral dengan menggunakan sonde lambung. Teh hijau yang diberikan merupakan seduhan teh (Lampiran 2) Perhitungan dosis teh hijau juga diperoleh berdasarkan konversi dosis manusia kepada mencit dengan angka konversi yang sama pula yaitu 0,0026. Dan pada hari ke – 27 sampai hari ke – 31 diberikan pula metotreksat dengan dosis 0,065 miligram per hari secara oral. Pada hari ke – 32 dilakukan pengambilan sampel darah tepi mencit Balb/c dari pleksus retroorbitalis. Setelah didapatkan sampel darah, selanjutnya dilakukan pengukuran jumlah leukosit dengan menggunakan Autoanalyzer Cell Dyn 3700 (Lampiran 1).

Data tersebut diperoleh dari hasil perhitungan jumlah leukosit mencit Balb/c kelompok kontrol, kelompok yang diberi metotreksat (kelompok perlakuan 1) dan kelompok yang diberi metotreksat dan teh hijau (kelompok perlakuan 2). Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil pengukuran di laboratorium.

Data yang diperoleh dari 3 kelompok penelitian akan diproses dengan menggunakan program SPSS 12.0 for Windows. Uji distribusi data dilakukan dengan uji *Saphiro – Wilk*. Uji homogenitas data dilakukan dengan uji *Levene*. Selanjutnya dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal – Wallis* dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$ ^{17,18}.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Rerata jumlah leukosit mencit Balb/c

variabel	Kelompok		
	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2
Jumlah leukosit	779,6 (SD 451,9)	694 (SD 245,6)	666,8 (SD 107,8)

$p = 0,954$

Rerata jumlah leukosit pada kelompok kontrol $0,7796 \pm 0,4519$, digunakan sebagai nilai normal jumlah leukosit mencit Balb/c. Pada kelompok perlakuan 1 (metotreksat) rerata sebesar $0,6940 \pm 0,2456$ sedangkan pada kelompok perlakuan 2 (metotreksat + teh hijau) sebesar $0,6668 \pm 0,1078$.

Uji normalitas terhadap data dengan uji *Saphiro – Wilk* diperoleh hasil bahwa data berdistribusi normal ($p > 0,05$) (lampiran 4,tabel 1). Hasil uji homogenitas varian dari data yang ada (*Levene Test*) (lampiran 4, tabel 2) diperoleh bahwa data tersebut mempunyai varian yang tidak homogen ($p < 0,05$). Karena distribusi data normal namun varian tidak homogen, maka digunakan uji statistik non parametrik *Kruskal – Wallis*.

Uji statistik *Kruskal – Wallis* menghasilkan nilai p sebesar 0,954 yang berarti tidak didapatkan perbedaan yang bermakna pada jumlah leukosit antara kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2 ($p > 0,05$).

Dari kepustakaan disebutkan bahwa efek samping metotreksat dalam menekan proses hematopoiesis menyebabkan turunnya jumlah leukosit. Efek samping tersebut lebih nyata terjadi pada dosis 25 – 30 mg⁵. Pada penelitian ini digunakan metotreksat secara oral karena lebih mudah dilakukan dan lebih aman. Namun pada tabel 1 terlihat tidak terjadi penurunan jumlah leukosit dari kelompok perlakuan 1. Hal tersebut diduga karena absorpsi metotreksat yang diberikan secara oral dipengaruhi oleh makanan sehingga menurunkan konsentrasi maksimal dalam darah. Sedangkan pada pemberian metotreksat secara intravena ataupun intramuskular, metotreksat mengalami absorpsi secara sempurna. Metotreksat secara oral juga mengalami metabolisme lintas pertama di hepar sehingga menurunkan bioavailabilitasnya¹⁹. Toksisitas metotreksat dipengaruhi oleh lama dan frekuensi pemberian^{4,19}. Semakin lama dan semakin sering metotreksat diberikan, semakin besar pula terjadinya penurunan jumlah leukosit. Sehingga kemungkinan waktu dan frekuensi pemberian metotreksat belum cukup untuk dapat menurunkan jumlah leukosit. Pada penelitian ini tidak dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis yang dapat menimbulkan efek pada mencit Balb/c, tetapi menggunakan dosis yang terbukti menimbulkan efek pada manusia⁵. Sehingga diduga dosis yang diperlukan pada mencit belum cukup untuk menurunkan jumlah leukosit.

Ekstrak katekin yang berasal dari *Spatholobus suberectus dunn* telah dibuktikan dapat memacu proses hematopoiesis¹⁴. Pada penelitian tersebut ekstrak katekin diberikan secara suntikan intraperitoneal. Teh hijau mengandung katekin.

Kandungan katekin pada teh hijau berkisar antara 7,02 – 11,60 % berat kering¹². Pada penelitian ini tidak terjadi peningkatan jumlah leukosit pada kelompok perlakuan 2. Hal ini terjadi kemungkinan karena yang digunakan adalah seduhan teh yang diberikan secara oral, bukan ekstrak katekin secara intraperitoneal. Sehingga efek katekin dalam memacu peningkatan jumlah leukosit belum terlihat.

KESIMPULAN

Teh hijau tidak terbukti meningkatkan jumlah leukosit mencit Balb/c yang diberi metotreksat dengan dosis 0,065 mg per hari.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis metotreksat yang dapat menurunkan jumlah leukosit mencit secara bermakna.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metotreksat dengan memperhatikan hal – hal sebagai berikut :
 - a. Pemberian dilakukan secara intramuskuler atau intravena
 - b. Waktu perlakuan lebih lama
 - c. Frekuensi pemberian ditingkatkan
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan ekstrak katekin yang berasal dari teh hijau untuk membuktikan pengaruh teh hijau terhadap jumlah leukosit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis memanjatkan puji syukur kepada Allah dan berterima kasih kepada ; dr. Pudjadi, SU, dr. Andrew Johan, Msi, dr. Tri Indah Winarni, dr. Helmia Farida, Mkes, staf laboratorium Biokimia FK UNDIP, Biotek, dan Patologi Klinik RSDK, keluarga, teman – teman yang telah membantu terlaksananya pembuatan artikel penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Katzung BG. Farmakologi dasar dan klinik. Edisi ke 8. Jakarta: Salemba Medika; 2004.472 – 3
2. Nafrialdi, Gan S. Antikanker dan immunosupresan. In: Setiabudy R, Suyatma FD, Purwastyastuti, editors. Farmakologi dan terapi. Jakarta; 2003. 686 – 713
3. Methotrexate (trexall, reumatrex) – drug class, medical uses, medication, side effects and drug interactions [online]. 2001 [2005Nov29]. Available from URL: <http://www.medicinenet.com/methotrexate/article.htm>
4. Methotrexate [online]. 2000[2005Nov29]. Available from URL: http://www.cai.mcgill.ca/meded/drugdb/methotrexate/methotrexate_dbhtm
5. Tjay TH, Rahardja K. Obat – obat penting. Edisi ke 5. Jakarta: Gramedia; 2002.200 - 210
6. Mazza JJ. Manual of clinical hematology. Third edition. USA: Lippincott William and Wilkins; 2002.1 - 16
7. Marsh JC, Boggs DR. Leukosit dan sel – sel induk hematopoesik. In : Suyono J, editor. Patofisiologi Sodeman. Jakarta:Hipokrates;1995.228 - 303
8. Hoffbrand AV, Pettit JE. Sel darah putih.In: Darmawan I, editor.Kapita selekta hematology. Edisi ke 2. Jakarta: EGC; 1996.102 - 125
9. Rumiya F. Teh hijau dan khasiatnya bagi penyakit kanker. Meditek 2004; 12 (30): 41 – 46
10. Mc Kay DL, Blumberg IB. The role of tea in human health. The Journal of The American College of Nutrition 2002; 21 (1): 1 – 13

11. Rietveld A, Wiseman S. Antioxidant effects of tea, evidence from human clinical trials. *The American Society for Nutritional Sciences Journal Nutrition* 2003; 133: 3285s – 92s
12. Teh dan penelitian [online]. 2003 [2006Feb1]. Available from URL: http://www.pn8.co.id/khasiat_tehasp
13. Imai K, Nakachi K. Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. *British Medical Journal* 1995; 310: 693 – 6
14. Yihong C, Dongxiao W, Ping L, Ruoyun C, Mengli C, Liufang C, et all. Hematopoetic supportive effect of (2S, 3R) ent catechin on marrow depressed mice. *Chinese Medical Journal* 2005; 118 (13): 1118 – 22
15. World Health Organization. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Manila: Regional Office for The Western Pasific;1993.35 - 42
16. Nurlaila, Donatus IA, Sugiyanto, Wahyono J, Suhardjono D. *Petunjuk Praktikum Toksikologi*. Edisi 1. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM;1992.11
17. Sopiudin MD. *Statistika untuk kedokteran dan kesehatan*. Edisi 1. Jakarta: PT ARKANS;2004.1 - 111
18. Tjokronegoro A, Sudarsono S. *Metodologi penelitian bidang kedokteran*. Edisi ke 5. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2004.127 - 273
19. Methotrexate sodium injection [online]. 2006[2006Juli4]. Available from URL: http://www.drugs.com/xq/ctm/page_ID_O/adv_1/xq/index.htm

LAMPIRAN 1

Prosedur Pengerjaan Autoanalyzer Cell Dyn 3700

1. Nyalakan alat dengan urutan
 - a. Analyzer dan *sample loader*
 - b. CPU (Komputer)
 - c. Monitor

Tunggu hingga status alat *Initialized*

2. Tekan tombol *Run / Prime*

Tunggu hingga status alat *Ready* dan nilai *background* masuk kriteria

$$\text{WIC} \leq 0,30$$

$$\text{WOC} \leq 0,30$$

$$\text{RBC} \leq 0,03$$

$$\text{HGB} \leq 0,20$$

$$\text{PLT} \leq 10,0$$

3. Tekan tombol *Specimen Type*
4. Pilih file kontrol yang akan dikerjakan
5. Tekan tombol *Quality Control Specimen*
6. Letakkan kontrol yang telah dihomogenisasi di bawah *probe*
7. Tekan *Touch Plate*
8. Lihat hasilnya

LAMPIRAN 2

Prosedur Pembuatan Seduhan Teh Hijau

A. Bahan dan Alat

1. Teh hijau 2 Tang
2. Air panas
3. Gelas ukur
4. Sonde lambung

B. Cara Kerja

1. Buang pembungkus teh
2. Timbang teh hijau sebanyak dosis yang dibutuhkan yaitu 9,4 gram
3. Seduh teh dengan air panas 100 cc selama 1 menit lalu buang ampasnya
4. Segera berikan kepada mencit menggunakan sonde lambung

LAMPIRAN 3

Hasil Perhitungan Jumlah Leukosit

No	Nama Kelompok	Jumlah Leukosit (ribu/mm ³)
1	Kontrol 1	0,301
2	Kontrol 2	0,414
3	Kontrol 3	0,743
4	Kontrol 4	1,04
5	Kontrol 5	1.40
6	Perlakuan 1.1	0,499
7	Perlakuan 1.2	0,743
8	Perlakuan 1.3	0,531
9	Perlakuan 1.4	1,1
10	Perlakuan 1.5	0,597
11	Perlakuan 2.1	0,543
12	Perlakuan 2.2	0,719
13	Perlakuan 2.3	0,61
14	Perlakuan 2.4	0,639
15	Perlakuan 2.5	0,823

Keterangan :

Kontrol : tidak mendapat perlakuan

Perlakuan 1 : diberikan metotreksat

Perlakuan 2 : diberikan metotreksat dan teh hijau

LAMPIRAN 4

Tabel 1. Uji distribusi data dengan *Saphiro – Wilk*

Tests of Normality

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Jumlah_Leukosit	kontrol	.951	5	.747
	Metotreksat	.842	5	.170
	metotreksat+teh hijau	.971	5	.884

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Tabel 2. Uji homogenitas data

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah_Leukosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.919	2	12	.049

Tabel 3. Uji *Kruskal – Wallis*

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Jumlah_Leukosit	kontrol	5	8.30
	Metotreksat	5	7.50
	metotreksat+teh hijau	5	8.20
	Total	15	

Test Statistics(a,b)

	Jumlah_Leukosit
Chi-Square	.095
df	2
Asymp. Sig.	.954

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Kelompok