



**PENGARUH TEH HIJAU TERHADAP JUMLAH ERITROSIT
MENCIT BALB/C YANG DIBERI METOTREKSAT**

ARTIKEL

Karya Tulis Ilmiah

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

Oleh :

**ALBERTA WIDYA KRISTANTI
G2A 002 007**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2006**

LEMBAR PENGESAHAN

ARTIKEL KARYA ILMIAH

**PENGARUH TEH HIJAU TERHADAP JUMLAH ERITROSIT
MENCIT BALB/C YANG DIBERI METOTREKSAT**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

ALBERTA WIDYA K.
NIM G2A 002 007

Telah dipertahankan di depan tim penguji KTI Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 2 Agustus 2006

TIM PENGUJI:

Ketua Penguji

Pembimbing

dr. Andrew Johan, Msi
NIP 131 673 427

dr. Pudjadi, SU
NIP 130 530 278

Penguji

dr. Tri Indah Winarni
NIP 132 163 892

THE EFFECT OF GREEN TEA TO THE TOTAL ERYTHROCYTE COUNT ON BALB/C MICE WERE GIVEN BY METHOTREXATE

Alberta Widya¹, Pudjadi²

ABSTRACT

Background: One important benefit of green tea is to stop oxidant production in the human body. This could be happen because of polifenol which has active substance that is catechin. Experimental studies provide strong evidence that catechin could stimulate mice's bone marrow, after given by radiation. This research was purposed to investigate the effect of green tea on increasing total erythrocyte count in balb/c mice, which is given by methotrexate.

Methods: This was an experimental research with "post test only control group design". Samples consist of 15 mice, divided into 3 groups randomly: without treatment (control); given metotreksat 0.065 mg/day (treatment group 1); given metotreksat 0.065 mg/day and green tea 46.8 mg/day (treatment group 2). The erythrocyte account were calculated by autoanalyzer cell DYN 3700.

Results: Anova test showed that there is no significantly associated between control, treatment 1 and treatment 2 group ($P > 0.05$).

Conclusion: Green tea, given orally 46.8mg/day, is not influencing erythrocyte account in the Balb/c mice were given by methotrexate 0.065mg/day orally.

Keywords: green tea, methotrexate, erythrocyte

- 1) Undergraduate Student of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang
- 2) Lecturer Staff of Biochemistry Section, Medical Faculty, Diponegoro University

PENGARUH TEH HIJAU TERHADAP JUMLAH ERITROSIT MENCIT BALB/C YANG DIBERI METOTREKSAT

Alberta Widya¹, Pudjadi²

ABSTRAK

Latar Belakang: Salah satu manfaat teh hijau adalah sebagai antioksidan. Hal ini dimungkinkan karena polifenol yang memiliki senyawa aktif yaitu katekin. Studi eksperimental membuktikan bahwa katekin dapat menstimulasi sumsum tulang mencit, setelah diradiasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh teh hijau terhadap jumlah eritrosit mencit Balb/c yang diberi metotreksat.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan “*The Post Test Only Control Group Design.*” Sampel terdiri dari 15 ekor mencit Balb/c yang dibagi tiga kelompok secara acak: kelompok tanpa perlakuan (kontrol); kelompok diberi metotreksat 0.065 mg/hari (perlakuan 1); kelompok diberi metotreksat 0.065 mg/hari dan teh hijau 46.8 mg/hari (perlakuan 2). Perhitungan jumlah eritrosit menggunakan *autoanalyzer cell DYN 3700*.

Hasil: Hasil uji statistik *Anova* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 ($p > 0.05$).

Kesimpulan: Pemberian Teh Hijau 46.8 mg/hari secara oral tidak memiliki pengaruh terhadap jumlah eritrosit mencit Balb/c yang diberi metotreksat 0.065 mg/hari per oral.

Kata kunci : teh hijau, metotreksat, eritrosit

- 1) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- 2) Staf Pengajar Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

PENDAHULUAN

Berdasarkan penelitian sebelumnya, katekin dilaporkan dapat menstimulasi proliferasi sel progenitor dari sistem hemetopoiesis pada sumsum tulang mencit, yang mengalami penekanan pada produksinya setelah diradiasi. Sebab, mencit yang telah diberi katekin memiliki GM-CSF (*Granulosit Makrofaq Colony Stimulating Factor*) dan IL-6 (*Interleukin 6*) yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Semua itu terjadi akibat regulasi dari sitokin yang menghasilkan antara lain GM-CSF dan IL-6 yang akan berpengaruh pada diferensiasi dan proliferasi *hematopoietic stem cells*.¹

Katekin yang antara lain terdiri dari *Epigallocatechin gallate* (EGCg) dan *Epigallocatechin*, merupakan senyawa aktif yang dimiliki teh hijau.^{2,3} Kandungan utama dari teh hijau adalah polifenol, dimana katekin merupakan salah satu diantaranya selain *flavonoid*, *flavonoidiol* dan asam fenolat.⁴ Penelitian ini menggunakan teh hijau karena mudah didapat dan persentase kandungan setiap dosis pemberian sama.

Tes atau uji laboratorium untuk mengetahui aktivitas sumsum tulang, salah satunya dengan pemeriksaan darah tepi. Sebab apabila aktivitas sumsum tulang menurun maka akan didapatkan pula penurunan pada pemeriksaan darah tepi, sedangkan bila aktivitasnya meningkat maka akan terjadi peningkatan pula pada pemeriksaan darah tepi. Salah satu pemeriksaan darah tepi yang dapat dilakukan adalah pemeriksaan jumlah eritrosit.

Aktivitas eritropoiesis diatur oleh hormon eritropoietin, yang dihasilkan oleh faktor ginjal dengan protein plasma. Rangsang untuk produksi eritropoietin adalah tekanan oksigen (O₂) dalam jaringan ginjal.⁵ Selain itu, eritropoiesis juga dipengaruhi oleh sitokin yaitu: *interleukin 3* (IL-3); GM-CSF dan *stem cell factor* (SCF), dimana

sitokin tersebut merangsang diferensiasi sel asal dalam sumsum tulang menjadi sel yang spesifik.⁶

Sitokin merupakan suatu golongan protein yang diproduksi oleh bermacam-macam sel seperti limfosit, makrofag, granulosit dan sel endotel, yang akan diaktifkan pada respon imun seluler. Sitokin diproduksi dan bekerja sebagai mediator pada imunitas non spesifik misalnya *Interferon* (IFN), *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dan *Interleukin 1* (IL-1), sedang yang lainnya terutama berperan pada imunitas spesifik. Empat sitokin utama mempunyai efek terhadap hematopoiesis pada manusia yaitu IL-3, GM-CSF, *Granulocyte Colony Stimulating Factor* (G-CSF) dan *Macrophage Colony Stimulating Factor* (M-CSF). Efek biologis IL-3 adalah membantu pertumbuhan sel pluripoten dalam sumsum tulang; *growth factor* untuk monosit, sedangkan GM-CSF dapat meningkatkan koloni neutrofil, eosinofil dan makrofag dalam sumsum tulang; mengaktifkan granulosit matang. G-CSF dalam hal ini memiliki efek meningkatkan neutrofil dan M-CSF meningkatkan koloni makrofag.⁶

Metotreksat merupakan analog 4-amino, N¹⁰-metil asam folat. Metotreksat sangat efektif pada koriokarsinoma, korioadenoma *destruens*, dan *mola hidatidosa*.⁷ Kerja dari metotreksat bersama dengan *dihidrofolat reduktase* akan memutus reduksi *dihidrofolat* menjadi bentuk aktifnya, yaitu asam *tetrahidrofolat*. Asam *tetrahidrofolat* penting untuk reaksi perpindahan rantai karbon yang dibutuhkan untuk sintesis *thymidylate* (prekursor DNA) serta purin adenosin dan guanosisin (prekursor DNA dan RNA).⁸ Metotreksat dapat menyebabkan supresi sumsum tulang, dimana hal ini sangat tergantung pada dosis dan cara pemberiannya. Metotreksat dapat menyebabkan anemia, leukopenia, neutropenia, pansitopenia dan/atau trombositopenia.⁹ Penekanan sumsum tulang akan terjadi pada dosis 25-30 mg.¹⁰

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah ada pengaruh pemberian teh hijau terhadap jumlah eritrosit mencit balb/c yang diberi metotreksat?

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa teh hijau dapat meningkatkan jumlah eritrosit mencit balb/c yang diberi metotreksat. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi mengenai pengaruh teh hijau terhadap jumlah eritrosit mencit balb/c yang diberi metotreksat, sehingga dapat dimungkinkan untuk diterapkan pada pasien-pasien yang mendapatkan terapi metotreksat, mengingat manfaatnya bagi kesehatan dan mudah didapatkan di pasaran.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain penelitian "*Post Test Only Control Group Design.*" Ruang lingkup keilmuan adalah Biokimia dan Imunologi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Undip dan Laboratorium Patologi Klinik RSDK.

Teh Hijau diperoleh dari pasaran dengan merek 2 Tang® dan diproduksi oleh PT Duta Serpack Inti. Metotreksat diperoleh dari apotek Kimia Farma, sedangkan mencit balb/c jantan, usia 6 minggu diperoleh dari Pusvetma Surabaya.

Dosis teh hijau yang digunakan sebesar 46.8 mg/hari merupakan hasil konversi dari dosis manusia 18g/hari, dengan asumsi bahwa untuk mendapatkan efek yang maksimal dalam menurunkan kadar kolesterol darah dibutuhkan ± 10 cangkir/hari pada manusia.¹¹ Sedangkan untuk dosis metotreksat 0.065mg/hari merupakan hasil konversi dari dosis manusia sebanyak 25mg/hari.¹⁰ Angka pengali yang digunakan untuk perhitungan konversi dari manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 gr adalah 0.0026.

Sampel penelitian adalah darah yang diambil dari 15 mencit balb/c dengan kriteria inklusi mencit balb/c jantan usia 6-8 minggu, sehat, memiliki berat 20-30 gram. Cara pengambilan sampel: mencit diadaptasi selama 7 hari dengan pakan standar. Dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan secara acak, yaitu: kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2). Kemudian setiap kelompok akan mendapat perlakuan sebagai berikut:

Kelompok K : tidak diberi perlakuan

Kelompok P1 : diberi metotreksat 0.065 mg/hari per oral pada hari ke-20 sampai hari ke-24

Kelompok P2 : diberi teh hijau 46.8 mg/hari per oral pada hari ke-8 sampai hari ke-25 dan diberi metotreksat 0.065 mg/hari per oral pada hari ke-20 sampai hari ke-24

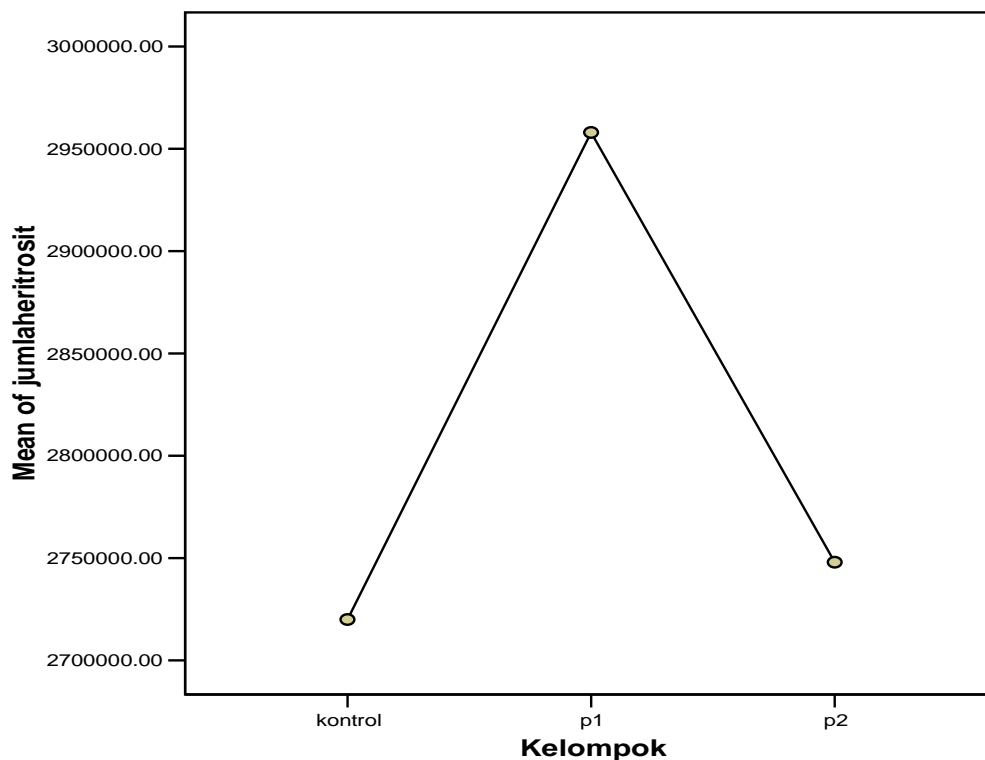
Pengambilan sampel darah pada masing-masing kelompok perlakuan dilakukan pada hari ke- 25. Dan pada hari yang sama dilakukan penghitungan jumlah eritrosit menggunakan *autoanalyzer CELL DYN 3700*.

Data yang dikumpulkan adalah data primer dari pemeriksaan jumlah eritrosit darah mencit balb/c. Variabel bebas, variabel perantara dan variabel tergantung masing – masing adalah teh hijau, metotreksat dan jumlah eritrosit. Kemudian data diolah dengan menggunakan program SPSS 12.00 for windows dengan tingkat kemaknaan yang digunakan adalah 0.05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hitung jumlah eritrosit pada ketiga kelompok perlakuan

KELOMPOK	N	MINIMUM	MAKSIMUM	MEAN	Std. Deviation
K [kontrol] (juta/mm ³)	5	2,24	3,48	2,72	0,473
P1 [Metotreksat] (juta/mm ³)	5	2,57	3,22	2,958	0,267
P2 [Teh hijau+Mtx] (juta/mm ³)	5	2,37	3,02	2,748	0,293



Gambar 1. Means Plot jumlah eritrosit pada ketiga kelompok

Pada tabel 1 ditampilkan rata- rata jumlah eritrosit pada ketiga kelompok. Jumlah eritrosit berhubungan erat dengan produksi dari sumsum tulang. Jika terjadi suatu kerusakan pada sumsum tulang maka produksinya akan menurun, sehingga gambaran darah tepi juga akan mengalami penurunan.

Rata – rata jumlah eritrosit pada kelompok kontrol (K) yaitu $2,72\pm 0,473$ juta/mm³, pada kelompok P1 yaitu $2,958\pm 0,267$ juta/mm³ dan pada kelompok P2 yaitu $2,748\pm 0,293$ juta /mm³. Rata – rata jumlah eritrosit tertinggi terdapat pada kelompok P1 dan rata – rata jumlah eritrosit terendah yaitu terdapat pada kelompok K.

Kemudian data diuji menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan diperoleh hasil bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi $p > 0.05$ (tabel 2).

Dari uji homogenitas varians (*Lavenne test*) diperoleh nilai signifikansi $p > 0.05$ (tabel 3) berarti data memiliki populasi yang homogen.

Data berdistribusi normal dan memiliki populasi yang homogen maka dilanjutkan dengan uji statistik *Anova*. Dari hasil uji statistik *Anova*, tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara jumlah eritrosit ketiga kelompok perlakuan yaitu antara kelompok K, kelompok P1 dan kelompok P2 dengan nilai signifikansi $p > 0.05$ (tabel 4).

Dari hasil yang didapat tersebut, didapatkan bahwa katekin tidak menimbulkan pengaruh pada kelompok perlakuan 2, sebab dimungkinkan kerusakan dari sumsum tulang belum terjadi. Sehingga pemberian teh hijau menjadi tidak berarti. Hasil ini bertolak bertolak belakang dari penelitian sebelumnya yang dilakukan di Cina oleh Chen YH et al (2005) yang melaporkan bahwa katekin dapat menstimulasi proliferasi sel progenitor dari sistem hematopoietik pada sumsum tulang mencit, yang mengalami penekanan setelah dilakukan radiasi.¹

Sesuai hasil analisis, didapatkan pula bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok P1. Hal ini dimungkinkan terjadi oleh karena pemberian metotreksat belum sampai menimbulkan toksisitas terhadap sumsum tulang. Hal – hal yang berpengaruh antara lain adalah dosis yang belum mampu menimbulkan efek terhadap penekanan sumsum tulang, rute pemberian obat secara oral dan lamanya pemberian obat tersebut. Obat yang diberikan secara oral akan sangat mempengaruhi bioavailabilitas obat tersebut di dalam tubuh. Seperti pada rute secara injeksi akan memberikan bioavailabilitas yang lebih tinggi(100%) daripada rute pemberian oral (<100%).¹² Memang, rute pemberian oral paling umum dilakukan karena paling aman, mudah dan murah.⁷ Tetapi ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi bioavailabilitas obat yang diberikan per oral, yaitu tingkat absorpsi, kecepatan absorpsi, dan eliminasi *first pass*.¹² Sedangkan mengenai jangka waktu pemberian metotreksat, didapatkan bahwa untuk pengujian pada hewan coba terdapat perbedaan dengan manusia dalam hal lama pemberian obat pada penelitian toksisitas. Untuk manusia jika dosis tunggal atau beberapa dosis yang dipakai, maka jika diterapkan pada hewan coba diharapkan pemberiannya dilakukan selama 2 minggu.⁷

KESIMPULAN

Pemberian teh hijau 46.8 mg/hari per oral tidak memiliki pengaruh terhadap jumlah eritrosit mencit balb/c yang diberi metotreksat 0.065mg/hari per oral selama 5 hari.

SARAN

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis yang dapat menimbulkan penekanan pada sumsum tulang dan rute pemberian yang tepat serta dalam jangka waktu yang lebih lama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada:

1. Tuhan YME karena kelancaran pembuatan karya ilmiah ini.
2. Kepala Bagian Biokimia, dr. Pudjadi, SU, atas ijin dalam rangka pelaksanaan karya ilmiah ini.
3. Dosen pembimbing, dr. Pudjadi, SU, atas segala bimbingannya.
4. Dosen penguji dan moderator, atas segala kritik dan saran.
5. Staf administrasi Bagian Biokimia atas segala bantuannya.
6. Orang tuaku atas dukungan moril dan material.
7. Teman-temanku satu kelompok.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chen YH, Wang DX, Liu P, Chen RY, Chen ML, Cheng LF et al. Hematopoietic-supportive effect of (2s,3R)-ent-catechin on marrow-depressed mice. Chinese Medical Journal 2005; 118(13): 1118-1122. Available from = URL:<http://www.chinesemedicaljournal.htm>.
2. Beecher GR, Warden AB, Merken HM. Analysis of tea polyphenols. P.S.E.B.M 1999; Vol 220.
3. Anonym. Green tea extracts : Ancient health secret of the orient. 1997 Sept [cited 2006 March 10]. Available from = URL: <http://www.life-enhancement.com/n37/n37greentea.html>.
4. Merken HM, Beecher GM. Measurement of food flavonoids by HPLC. J. Agric. Food 2000; Chem 48: 577-94.
5. Hoffbrand AV, Pettit JE. Kapita selekta haematologi (essential haematology). Edisi ke-2. Jakarta: EGC; 1996: 5.
6. Baratawidjaja KG. Immunologi dasar. Edisi ke-4. Jakarta: FK-UI; 2001: 93-104.
7. Ganiswara SG, Setiabudi R, Suyatna FD, Purwastyastuti, Nafrialdi, editors. Farmakologi dan terapi. Edisi ke-4. Jakarta: Bagian Farmakologi FK-UI; 2003: 697.
8. Lewis JH, editor. Gastroenterology clinics of north america: drug induced liver disease. Vol 24 No. 4. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1995: 974.
9. Lederle, Mylan. Methotrexate. 2000[cited 2000 may 31]. Available from: URL:http://www.cai.mcgill.ca/meded/drugdb/methotrexate/mtx_db.htm.
10. Tan HT, Rahardja K. Obat-obat penting khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya. Edisi ke-5. Jakarta: PT Elex Media Komputindo kelompok Gramedia; 2002: 208.
11. Imai K, Nakachi K. Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver disease. Britishmedicaljournal 1995; 310: 693.

12. Lestari CS. Seni menulis resep: teori dan praktek. Jakarta: PT Perca; 2002: 55-56.

Lampiran 1

Tabel 2. Hasil uji distribusi dengan *Saphiro-Wilk*

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah eritrosit mencit Balb/c kelompok kontrol	.249	5	.200(*)	.919	5	.524
Jumlah eritrosit mencit Balb/c kelompok Perlakuan 1	.186	5	.200(*)	.933	5	.618
Jumlah eritrosit mencit Balb/c kelompok perlakuan 2	.236	5	.200(*)	.876	5	.293

* This is a lower bound of the true significance.
a Lilliefors Significance Correction

Tabel 3. Hasil uji homogenitas varians

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah eritrosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.474	2	12	.633

Tabel 4. Hasil uji statistic Anova

ANOVA

Jumlah eritrosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	169213333 333.333	2	84606666666. 667	.667	.531
Within Groups	152196000 0000.000	12	12683000000 0.000		
Total	169117333 3333.333	14			

LAMPIRAN 2:

PROSEDUR Pengerjaan CELL DYN 3700

Nyalakan alat dengan urutan sebagai berikut:

1. Analyzer & sample leader
2. CPU (komputer)
3. Monitor

Tunggu hingga status alat *INITIALIZED*



RUN/PRIME

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

$$WIC \leq 0.30$$

$$WOC \leq 0.30$$

$$RBC \leq 0.03$$

$$HGB \leq 0.20$$

$$PLT \leq 10.0$$



SPECIMEN TYPE



Pilih file kontrol yang akan dikerjakan



QC SPECIMEN



letakkan kontrol yang telah dihomogenisasi di bawah probe



Tekan TOUCH PLATE

Lihat hasil, ↓ bandingkan dengan range

LAMPIRAN 3:

PROSEDUR PEMBUATAN SEDUHAN TEH HIJAU

- 1) Panaskan air sebanyak ± 100 ml hingga mendidih.
- 2) Lalu tuang dalam wadah dan dinginkan hingga mencapai suhu 70° C, dengan merendam wadah di dalam waskom yang berisi es.
- 3) Setelah itu, larutkan 9.4 gram teh hijau (kurang lebih sama dengan 5 *sachet*) ke dalam 100 ml air. Dosis tersebut didapatkan dari perhitungan sebagai berikut:

$$\frac{0.5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = \frac{46.8 \text{ mg}}{X}$$

$$\text{maka, } X = \frac{4680 \text{ mg}}{0.5}$$

$$X = 9360 \text{ mg}$$

$$X = 9.4 \text{ gram} = 5 \text{ sachet}$$

- 4) Biarkan selama 3 menit, setelah itu angkat seluruh ampas teh sehingga yang tertinggal hanyalah larutan teh tanpa ampas.
- 5) Berikan pada tiap mencit sebanyak 0.5 cc yang diambil dari larutan yang telah dibuat tersebut.

