



PENGARUH PEMBERIAN POLIFENOL TEH HIJAU TERHADAP KEMAMPUAN FAGOSITOSIS

ARTIKEL ILMIAH

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

Oleh

Almond Wibowo

G2A002010

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2006

HALAMAN PENGESAHAN

Nama : Almond Wibowo
NIM : G2A002010.
Fakultas : Kedokteran
Universitas : Diponegoro
Judul : Pengaruh Pemberian Polifenol Teh hijau terhadap
Kemampuan Fagositosis
Bidang Ilmu : Biokimia
Dosen Pembimbing : dr. Andrew Johan, MSi
Diajukan Tanggal : 3 Januari 2006

Semarang, Januari 2006

Dosen Pembimbing

Dr. Andrew Johan, MSi
NIP. 131 673 427

The Effect of Green Tea Polyphenol with the Ability of Phagocytosis

Almond Wibowo ^{a)} Andrew Johan ^{b)}

ABSTRACT

Background : *Camellia sinensis*, known as green tea is one of the traditional drinking which has special quality in medical scope. The prominent key from the special quality of green tea is the bioactive component that is polyphenol. A research reported that there was correlation between the consumption of green tea polyphenol with increasing of phagocytosis ability in the mice which was given green tea.

Objective : To prove that there is an effect of green tea polyphenol on the ability of phagocytosis.

Method : The research is a quasi experimental pretest-posttest design. Sample consisted of 16 health individuals who agreed to participate in this research which the health individuals phagocytosis ability before treatment would be examined, then they would give capsule that consist of polyphenol green tea 350mg, drink it twice a day for 4 weeks. In the end of 4th weeks, the phagocytosis ability would be examined again, and then to pair examination results between before and after treatment and to give the correlation between phagocytosis ability after treatment.

Result : The experiment showed that there is increasing of phagocytosis ability which statistically significant ($p < 0,05$) after treatment of polyphenol green tea compared to that before treatment.

Conclusion : The giving of green tea polyphenol has significantly differences in increasing of phagocytosis ability.

Keyword : Green tea polyphenol and phagocytosis ability.

a) Student of Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

b) Lecture Staff of Biochemistry Section, Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

The Effect of Green Tea Polyphenol with the Ability of Phagocytosis

Almond Wibowo ^{a)} Andrew Johan ^{b)}

ABSTRAK

Latar Belakang: Camellia sinensis, lebih dikenal dengan teh hijau merupakan salah satu minuman tradisional yang memiliki khasiat pada bidang medik. Kunci utama dari khasiat teh hijau terletak pada komponen aktifnya yaitu polifenol. Pada penelitian terdahulu dilaporkan bahwa ada hubungan antara konsumsi teh hijau dengan meningkatnya kemampuan fagositosis pada mencit yang diberi teh hijau.

Tujuan : Membuktikan adanya pengaruh polifenol teh hijau terhadap kemampuan fagositosis.

Metoda : Penelitian ini menggunakan rancangan quasi experimental pre and posttest design. Sampel terdiri dari 16 individu sehat yang menyatakan setuju untuk berpartisipasi dalam penelitian di mana individu sehat tersebut selanjutnya akan diperiksa kemampuan fagositosis, lalu akan diberikan kapsul polifenol teh hijau 350 mg, diminum 2 kali sehari selama 4 minggu. Pada akhir minggu ke 4 akan dilakukan pengukuran kembali kemampuan fagositosis.

Hasil: Penelitian menunjukkan terjadi peningkatan kemampuan fagositosis yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) setelah pemberian polifenol teh hijau dibandingkan sebelum mendapatkan perlakuan.

Kesimpulan : Pemberian polifenol teh hijau dapat meningkatkan kemampuan fagositosis secara bermakna.

Kata kunci: Polifenol teh hijau, kemampuan fagositosis.

a) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

b) Staf Pengajar Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

PENDAHULUAN

Teh hijau telah lama dikenal oleh masyarakat dunia, khususnya Asia Timur, sebagai minuman populer sehari-hari. Sekitar 3 milyar kilogram teh hijau diproduksi dan dikonsumsi setiap tahunnya. Teh hijau diketahui sebagai minuman yang berkhasiat bagi kesehatan dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat dunia. Begitu banyak manfaat yang dimiliki oleh teh hijau untuk masalah kesehatan menyebabkan banyaknya penelitian tentang teh hijau dan hal itu cukup mendapat perhatian masyarakat dunia.¹

Teh hijau berasal dari tanaman teh (*Camellia sinensis*) dalam pengolahannya tidak mengalami proses oksidasi menjadi teh hijau. Sedangkan yang dalam pengolahannya mengalami proses oksidasi menjadi teh hitam.^{2,3} Teh hijau memiliki kandungan senyawa polifenol antara 15-30% dari total beratnya. Polifenol sendiri mengandung senyawa aktif berupa *catechin* yang antara lain terdiri dari Epigallocatechin gallate (EGCg), Epicatechin gallate (EGC), Epigallocatechin (EGC) dan Gallocatechin (GC).^{4,5}

Pada penelitian terdahulu, polifenol teh hijau dilaporkan dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh yaitu dengan membantu sistem fagositosis.⁶ Teh hijau yang diminum selama 2 minggu dapat meningkatkan ketahanan limfosit penderita diabetes mellitus.⁷ Pada penelitian Shiozaki di Jepang, EGCg dari teh hijau terbukti menstimulasi produksi Interleukin-1 -alpha (IL1- α), Interleukin-1-beta (IL1- β), dan Tumor-Necrotizing Factor alpha (TNF- α). Teh hijau juga dapat meningkatkan sekresi IFN- γ dan respons proliferasi limfosit, serta kemampuan fagositosis dan sekresi IL-12 makrofag pada mencit yang diinokulasi

L.monocytogenes. Bakteri intraseluler seperti *L.monocytogenes*, menstimulasi sekresi IL-12 yang mengaktifkan sel NK serta menstimulasi perkembangan sel Th1 dan sel CD8 CTLs. Ketiganya mensekresi IFN- γ yang akan mengaktifkan fagosit sehingga fagosit dapat membunuh bakteri intraseluler tersebut.^{8,9,10} Fagosit teraktifasi membunuh bakteri melalui mekanisme fagositosis, kemudian membentuk ROI (*Reactive Oxygen Intermediates*) yang salah satunya berupa hidrogen peroksida (H₂O₂) dan nitrit oksida (NO) untuk menghancurkan bakteri yang difagosit. Pada penelitian terdahulu, teh hijau juga terbukti meningkatkan kemampuan produksi ROI fagosit. Dengan meningkatnya sekresi ROI yang merupakan salah satu bahan aktif yang dihasilkan fagosit, maka terjadi peningkatan kemampuan fagositosis dari fagosit.^{11,12}

Berdasarkan penelusuran kepustakaan, kemampuan fagosit dan sekresi ROI terbukti meningkat pada mencit setelah diberi polifenol teh hijau, tetapi belum ada penelitian langsung mengenai perubahan kemampuan fagositosis dan sekresi hidrogen peroksida oleh fagosit.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh polifenol teh hijau terhadap kemampuan fagositosis pada individu sehat.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi untuk penelitian lebih lanjut mengenai manfaat mengonsumsi teh hijau secara teratur dan dapat memberikannya pada individu yang sedang mengalami infeksi.

METODE PENELITIAN

Ruang lingkup keilmuan pada penelitian ini adalah Ilmu Biokimia dan Imunologi. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi FK UNDIP Semarang dimulai pada bulan Agustus 2004 hingga bulan Februari 2005 .

Penelitian ini menggunakan rancangan *quasi experimental pre and post test design* yang menggunakan manusia sebagai obyek penelitian.

Populasi penelitian adalah individu sehat yang memberikan *informed consent* (pernyataan setuju untuk ikut serta dalam penelitian).

Sampel penelitian ini berjumlah 16 orang yang diperoleh dari populasi dengan kriteria inklusi jenis kelamin laki-laki atau wanita, kadar SGPT dan SGOT normal, pemeriksaan USG hepar dan ginjal normal, kadar ureum dan kreatinin normal. Sedangkan kriteria eksklusinya antara lain individu yang mempunyai riwayat penyakit berat, menderita sakit pada masa penelitian dan tidak mengkonsumsi kapsul polifenol teh hijau secara teratur.

Variabel dalam penelitian ini meliputi pemberian kapsul polifenol hijau ¹⁶ 350 mg sebagai variabel bebas, sedangkan kemampuan fagositosis dan kadar hidrogen peroksida yang disekresi oleh fagosit sebagai variabel tergantung.

Alat yang digunakan meliputi spuit steril, torniquet, tabung reaksi, mikropipet, bilik hitung NI, mikroskop cahaya, inkubator CO₂, *Object glass* dan *deck glass*, pesawat sentrifuge dan tabung sentrifuge, mikroplate ELISA 96 sumuran dengan dasar rata, *Automated Microplate Reader*, Spektrofotometer dan cuvet, mikroplate 24 sumuran, dan Coverslip.

Bahan yang digunakan meliputi sampel darah, Alkohol 70%, kapsul polifenol (640 kapsul), larutan PBS, larutan RPMI, larutan NH₄Cl, reagen ficol, reagen 1 (ammonium iron (II) sulfate, H₂SO₄), reagen 2 (sorbitol, xylenol orange in water), reagen Bioxytech, larutan Giemsa, dan *latex beads*.

Cara kerja dalam penelitian ini yaitu individu sehat yang menyatakan setuju untuk berpartisipasi dalam penelitian akan diambil darahnya kemudian dilakukan pemisahan fagosit (Lampiran I). Kemudian diperiksa kemampuan fagositosis (Lampiran II) sebelum perlakuan, selanjutnya akan diberikan kapsul polifenol teh hijau 350 mg, 2 kali sehari selama 4 minggu. Pada akhir minggu ke 4 akan dilakukan pengukuran kembali kemampuan fagositosis dan kemudian membandingkan antara hasil sebelum dan sesudah perlakuan.

Data tersebut diperoleh dari hasil penghitungan jumlah partikel latex beads yang difagositosis sebelum dan sesudah perlakuan (Lampiran II). Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil pengukuran di laboratorium.

Kemampuan fagositosis sebelum dan sesudah perlakuan disajikan dalam bentuk grafik *boxplot*. Data yang diperoleh dari penghitungan jumlah partikel *latex beads* yang difagositosis dan kadar hidrogen peroksida sebelum dan sesudah perlakuan akan diuji menggunakan uji distribusi normalitas data (uji *Saphiro-Wilk test*). Apabila data berdistribusi normal akan dilakukan uji *paired sample T-test* dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$. Apabila data berdistribusi tidak normal akan dilakukan uji *Wilcoxon signed rank test* pada tingkat kemaknaan $p < 0,05$. Pengolahan analisis data menggunakan program SPSS for Windows versi 13.0 dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$.

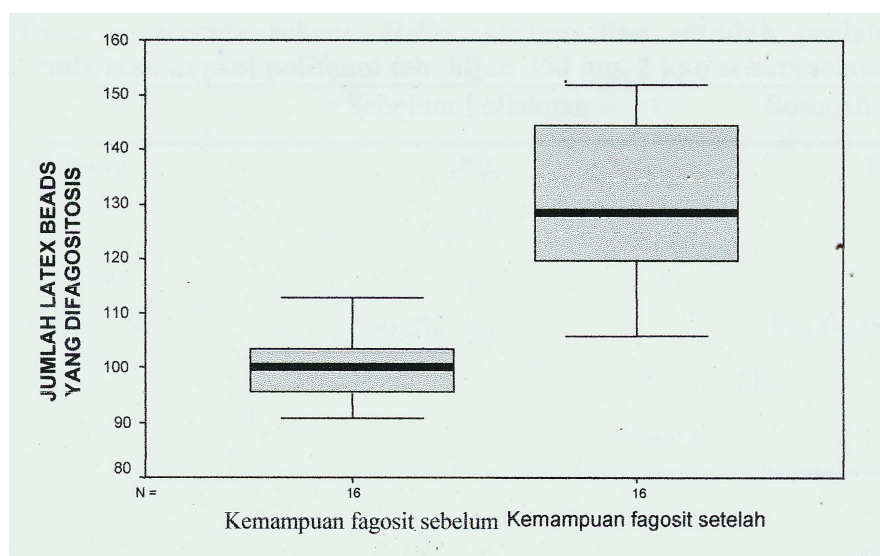
HASIL

Penelitian ini diikuti oleh 16 orang di mana semuanya menjadi sampel mendapat perlakuan meminum kapsul polifenol teh hijau 350 mg 2 kali sehari .Data hasil percobaan diuji ke normalitasnya dengan Saphiro-Wilk test.

Pada uji Saphiro-Wilk test di atas didapatkan secara umum distribusi data kemampuan fagositosis sebelum maupun sesudah perlakuan berdistribusi normal dengan $p > 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji paired sample T-test untuk membandingkan kemampuan fagositosis sebelum dan sesudah perlakuan.

Tabel 1. Rerata kemampuan fagositosis sebelum dan sesudah perlakuan

| | Sebelum Perlakuan | Sesudah Perlakuan |
|-----------------|-------------------|-----------------------|
| Minimal | 91 | 122 |
| Maksimal | 106 | 152 |
| Median | 100 | 128,5 |
| Rerata \pm SD | 101,1875 | 130,625 \pm 14,3103 |
| Perubahan | | \pm 7,9012 |
| P | | 0,00 |



Grafik 1. Rerata kemampuan fagositosis sebelum dan sesudah perlakuan

Pada uji paired sample T-test menunjukkan bahwa nilai kemaknaan kemampuan fagositosis kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) yang berarti kemampuan fagositosis sebelum dan sesudah perlakuan memiliki nilai kemaknaan.

PEMBAHASAN

Hasil di atas menunjukkan bahwa polifenol teh hijau berpengaruh terhadap peningkatan kemampuan fagositosis. Secara statistik diperoleh data yang signifikan. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa polifenol teh hijau terbukti meningkatkan sistem pertahanan tubuh yaitu dengan menstimulasi produksi Interleukin-1 α (IL1- α), Interleukin-1-beta (IL1- β), dan Tumor-Necrotizing Factor alpha (TNF- α) dan meningkatkan sekresi IFN- γ dan respons proliferasi limfosit, serta kemampuan fagositosis dan sekresi IL-12 makrofag.

KESIMPULAN

Pada percobaan di atas dapat disimpulkan bahwa:

Terdapat perbedaan yang bermakna pada peningkatan kemampuan fagositosis antara sebelum dan sesudah perlakuan ($p < 0,05$)

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh polifenol teh hijau terhadap kemampuan fagositosis oleh fagosit dengan memperhatikan hal-hal sebagai berikut:

- c) Perlu jumlah sampel yang lebih besar.
- d) Perlu adanya keseragaman sampel.
- e) Perlu waktu penelitian yang lebih lama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kepada Allah Bapa di Surga, Yesus Kristus, Putranya dan Bunda Maria atas selesainya karya ilmiah ini. Terima kasih saya ucapkan kepada dr. Andrew Johan, MSi selaku pembimbing, Ibu Neni S, MSi yang selalu memberikan bantuan bimbingan, dra. Henna Rya S, Apt, MES sebagai ketua penguji, DR.dr. Setia Raharja, PhD sebagai pengujian seluruh analisis di laboratorium bioteknologi FK UNDIP serta semua pihak yang telah mendukung dalam penyelesaian penulisan artikel ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Greenwell I. Green tea [Online]. 1997 July 17 [cited 2004 Dec 17]; Available from: URL: <http://www.lef.org/cgi-local/greenteaivy.html>. 1997
- Merken HM, Beecher GM. Measurement of food flavonoids by HPLC. *J. Agric. Food* 2000; Chem 48, 577-594
- Yang CS, Landau JM. Effects of tea consumption on nutrition and health. *Journal of Nutrition* 2000; 130(10): 2409-12.
- Beecher GR, Warden AB, Merken HM. Analysis of tea polyphenols. *P.S.E.B.M* 1999; Vol 220
- Green tea extracts: ancient health secret of the orient [Online]. 1997 Sep 1 [cited 2004 Dec 17]; Available from: URL: <http://www.life-enhancement.com/n37/n37greentea.html>
- Adityono. Efek teh hijau terhadap daya fagositosis makrofag pada mencit yang diinokulasi *L. Monocytogenes*, Skripsi FK UNDIP; 2000
- Susanti Y. Efek teh hijau terhadap respons proliferasi limfosit pada mencit yang diinokulasi *L. monocytogenes*, Skripsi FK UNDIP; 2000
- Johan A, Susilaningih N, Gunardi, editors. Penelitian in vitro efek polifenol teh hijau terhadap mekanisme pertahanan tubuh pada mencit yang diinokulasi *L. monocytogenes*. Laporan Akhir Penelitian DCRG; 2000.
- Baratawidjaya KG. *Imunologi dasar*. 3rd ed. Jakarta: Balai Penerbit FK UI, 1996. p. 1-37
- Roitt IM. *Essentiale immunologi*. 6th ed. London: Blackwell Scientific Pub 1988. p. 329
- Abbas AK, Litchman AH, Pober JS. *Celluler and moleculer imunology*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1997. p. 1-300.
- Johan A, Susilaningih N, Gunardi, Winarto. Pengaruh polifenol teh hijau terhadap aktivitas makrofag dalam membunuh bakteri. Artikel Penelitian FK UNDIP; 2003
- Hoog N. Pro-oxidant and antioxidant effects of nitric oxide. In: Favier AE, Cadet J, editors. *Analysis of free radicals in biological systems*. Basel : Brikhauser, 1995. p. 37-48.
- Parslow TG, Bainton DF. Innate immunity. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, editors. *Medical imunobiology*. 10th ed. Norwalk (CN): Appleton and Lange; 2001. p. 19-39.
- Green tea extract [Online] 2002 Oct 6 [cited 2004 Dec 17]; Available from: URL: <http://www.lef.org/newshop/items/items00443.html>
- Item Catalog Number 00753: Available from URL: <http://www.lef.org/newshop/items/item00753.html>

LAMPIRAN I

Cara kerja memperoleh fagosit

- a. Darah vena diambil 10 cc dari tiap sukarelawan dan dilakukan sentrifus dengan kecepatan 2100 rpm selama 10 menit.
- b. Plasma dipisahkan dari sel-sel darah
- c. Sel darah yang tersisa kemudian ditambahkan PBS 10 cc dan dikocok pelan, lalu ditambahkan fikol 3 cc
- d. Sentrifus dengan kecepatan 2100 rpm, selama 30 menit pada suhu 20°C
- e. PMN diambil dari lapisan PMN yang terbentuk dan tambahkan NH₄Cl dalam suasana dingin sampai 10 cc untuk melisiskan eritrosit yang tercampur. Dikocok 10 menit hingga homogen.
- f. Sentrifus dengan kecepatan 1200 rpm selama 10 menit pada suhu 60C
- g. PMN yang telah terpisah dari eritrosit, ditambahkan media RPMI sampai 10 cc. Sentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C.
- h. Melakukan langkah (g) sekali lagi.
- i. Menambahkan media RPMI sampai 2 cc.
- j. Mengambil sejumlah 2×10^6 fagosit dengan menggunakan bilik hitung.
- k. Menginkubasi 60 menit

LAMPIRAN II

Cara kerja perhitungan kemampuan fagositosis

- c) Suspensi fagosit yang telah dihitung dikultur pada mikroplate 24 sumuran yang telah diberi coverslip bulat, setiap sumuran 200 μ L (5×10^5 sel), inkubasi dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37°C selama 30 menit.
- d) Menambahkan medium komplet yang berisikan RPMI dan larutan PBS sebanyak 1mL/sumuran, lalu diinkubasi selama 2 jam.
- e) Sel kemudian dicuci dengan larutan RPMI sebanyak 2 kali, kemudian ditambahkan medium komplet 1mL/sumuran, diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, sel dicuci dengan larutan RPMI kembali sebanyak 2 kali.
- f) Latex beads diresuspensikan sehingga mendapat konsentrasi $2,5 \times 10^7$ /mL.
- g) Suspensi latex ditambahkan 200 μ L/sumuran, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 60 menit pada suhu 37°C.
- h) Setelah diinkubasi, dicuci dengan larutan PBS sebanyak 3 kali untuk menghilangkan partikel yang tidak difagosit
- i) Lalu dikeringkan pada suhu ruangan, lalu difiksasi dengan methanol absolute.
- j) Setelah kering, Coverslip dipulas dengan Giemsa 20% selama 30 menit.
- k) Coverslip dicuci dengan aquadest, lalu diangkat dari sumuran kultur dan
- l) dikeringkan pada suhu ruangan.
- m) Setelah kering dimounting pada object glass.
- n) jumlah sel yang memfagosit partikel latex dihitung dari 200 sel fagosit yang diperiksa dengan mikroskop cahaya

LAMPIRAN III

| Kemampuan Fagositosis | |
|-----------------------|-------------------|
| Sebelum Perlakuan | Sesudah Perlakuan |
| 91 | 147 |
| 95 | 106 |
| 101 | 111 |
| 96 | 121 |
| 113 | 152 |
| 122 | 133 |
| 105 | 127 |
| 102 | 146 |
| 108 | 151 |
| 99 | 124 |
| 95 | 129 |
| 99 | 128 |
| 93 | 137 |
| 102 | 117 |
| 101 | 143 |
| 97 | 118 |