

616.073
EFE
e e1

HIBAH BERSAING



Laporan Hasil Pelaksanaan Penelitian Hibah Bersaing

EFEK POLIFENOL TEH HIJAU
SEBAGAI IMUNOMODULATOR PADA INFEKSI

Oleh :

Neni Susilaningsih, dr, MSi

Andrew Johan, dr, MSi

Gunardi, Drs-Apt, MS

Winarto, dr, DMM, MSc, SpMK, SpM

Biaya dari Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia,
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional
Tahun Anggaran 2002

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
Nopember, 2002

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
Laporan Hasil Pelaksanaan Penelitian Hibah Bersaing

A. Judul Penelitian : Efek Polifenol Teh Hijau Sebagai Imunomodulator Pada Infeksi

B. Ketua Peneliti

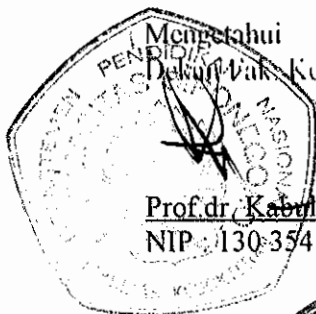
- a. Nama lengkap dengan gelar : Neni Susilaningsih, dr. M.Si.
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Pangkat/Golongan/NIP : Penata/IIIc/ 131 832 243
- d. Bidang Keahlian : Histologi, Imunologi
- e. Fakultas : Fakultas Kedokteran
- f. Universitas : Universitas Diponegoro

C. Tim Peneliti

No	NAMA DAN GELAR AKADEMIK	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS/ JURUSAN	PERGURUAN TINGGI
	Neni Susilaningsih, dr, M.Si	Histologi, Imunologi	Bag. Histologi Fak. Kedokteran	UNDIP
	Andrew Johan, dr, M.Si	Biokimia, Imunologi	Bag. Biokimia Fak. Kedokteran	UNDIP
	Gunardi, Drs, Apt, MS	Kimia Kedokteran, Farmasi	Bag. Kimia Medis Fak. Kedokteran	UNDIP
	Winarto, dr, SpMK, SpM(K)	Mikrobiologi	Bag. Mikrobiologi Fak. Kedokteran	UNDIP

D. Pendanaan dan jangka waktu penelitian

- Jangka Waktu Penelitian : 3 tahun
- Biaya 2002 – 2004 yang diusulkan : Rp. 120.000.000,-
- Biaya yang disetujui tahun 2002 : Rp. 40.000.000,-



Mengetahui
 Dekan Fak. Kedokteran UNDIP

Prof. dr. Kaburachman, SpKK(K)
 NIP : 130-354 867

Semarang, 25 Nopember 2002
 Ketua Peneliti,

dr. Neni Susilaningsih, M.Si.
 NIP 131 832 243



Menyetujui
 Ketua Lembaga Penelitian UNDIP

dr. I. Rivanto, SpBD
 NIP : 130 529 454

RINGKASAN

EFEK POLIFENOL TEH HIJAU SEBAGAI IMUNOMODULATOR PADA INFEKSI

Neni Susilaningsih*, Andrew Johan*, Gunardi*, Winarto*

*Fakultas Kedokteran UNDIP

Tahun 2002, 26 halaman

Teh hijau diperoleh dari daun tanaman teh (*Camellia sinensis*) yang diproses tanpa teroksidasi, memiliki kandungan senyawa polifenol 15 sampai 30% yang didalamnya mengandung senyawa aktif yaitu *catechin* yang antara lain terdiri dari *Epigallocatechin gallate (EGCg)* dan *Epigallocatechin (EGC)*. Polifenol teh hijau telah dilaporkan dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi.

Permasalahan dalam penelitian ini dirumuskan : ¹⁾Apakah polifenol teh hijau ataupun komponen aktifnya yaitu EGCg maupun EGC dapat sebagai imunomodulator dalam meningkatkan kemampuan fagositosis dan membunuh kuman (*bacterial killing*) pada makrofag dari mencit yang diimunisasi dengan *Listeria monocytogenes*, dinilai dari : peningkatan kemampuan memfagosit latex, peningkatan produksi NO makrofag, peningkatan produksi ROI makrofag serta penurunan jumlah hitung kuman dari kultur sel-sel hepar. ²⁾Apakah polifenol, EGCg atau EGC yang paling kuat meningkatkan fagositosis dan pembunuhan bakteri oleh makrofag ? ³⁾Berapakah dosis yang paling poten dari polifenol, EGCg atau EGC yang paling kuat meningkatkan fagositosis dan pembunuhan bakteri oleh makrofag ?

Tujuan penelitian ini ialah untuk membuktikan bahwa polifenol teh hijau ataupun komponen aktifnya yaitu EGCg maupun EGC dapat sebagai imunomodulator dalam meningkatkan kemampuan fagositosis dan membunuh kuman (*bacterial killing*) pada makrofag dari mencit yang diimunisasi dengan *Listeria monocytogenes*, dinilai dari : peningkatan fagositosis partikel latex, peningkatan produksi NO, peningkatan produksi ROI dan penurunan jumlah hitung kuman dari kultur hepar. Tujuan yang lain adalah untuk mengidentifikasi apakah polifenol, EGCg atau EGC yang paling kuat meningkatkan fagositosis dan pembunuhan bakteri oleh makrofag serta dosis berapa yang paling poten.

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental sesungguhnya dengan rancangan *the post test only control group design* pada hewan coba mencit BALB/c dari UPHP FKH UGM Yogyakarta, umur 8-12 minggu. Selama penelitian mencit diberikan makan/minum secukupnya.

Sebanyak 66 ekor mencit yang telah adaptasi selama satu minggu dibagi secara acak menjadi 11 kelompok perlakuan : A) Kontrol tanpa perlakuan, B) Diimunisasi dengan *L. monocytogenes* (Kontrol +), C) diberi Polifenon60 dosis 1,5 mg/hr, D) diberi Polifenon60 dosis 3 mg/hr selama 14 hr, E) diberi Polifenon60 dosis 6 mg/hr, F) diberi EGCg 0,5 mg/hr, G) diberi EGCg 1 mg/hr, H) diberi EGCg 2 mg/hr, I) diberi EGC 0,15 mg/hr, J) diberi EGC 0,3 mg/hr dan K) diberi EGC 0,6 mg/hr. Pada kelompok C s/d K, perlakuan diberikan selama 14 hari serta diimunisasi dengan *L. monocytogenes*.

Pada hari ke 15 dilakukan pengambilan/isolasi makrofag peritoneal dari semua kelompok mencit, kemudian dilakukan pemeriksaan fagositosis makrofag, produksi ROI & produksi NO dari supernatan kultur makrofag dengan metode baku. Hepar diambil selanjutnya dilakukan kultur untuk menghitung jumlah kuman yang masih hidup.

Data hasil penelitian diolah dan dianalisis dengan uji Analysis of variance (ANOVA) dilanjutkan dengan uji post hoc Bonferroni serta Tamhane.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa : Polifenol teh hijau, EGCg serta EGC dapat sebagai imunomodulator dalam meningkatkan kemampuan fagositosis dan membunuh kuman (*bacterial killing*) pada makrofag dari mencit yang diimunisasi dengan *Listeria monocytogenes*, dinilai dari : peningkatan fagositosis partikel latex, peningkatan produksi NO, peningkatan produksi ROI, serta penurunan jumlah kuman dari kultur jaringan hepar. Dari tiga bahan yang diteliti, polifenol (*poliphenon-60*) menunjukkan efek yang paling kuat dibanding EGCg maupun EGC. *Poliphenon-60* dosis 6 mg/hr menunjukkan efek paling kuat dalam meningkatkan produksi NO dan ROI serta menurunkan jumlah hitung kuman, namun efek dalam meningkatkan aktifitas fagositosis lebih rendah dibanding dosis 3 mg/hr. *Poliphenon-60* dosis 3 mg/hr menunjukkan efek paling kuat dalam fagositosis, dan cukup efektif dalam meningkatkan produksi NO & ROI serta menurunkan jumlah hitung kuman.

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan agar dilakukan uji toksisitas dan penentuan LD 50 terhadap bahan-bahan tersebut, serta dapat dilanjutkan dengan uji klinis pada hewan coba sebelum memanfaatkan bahan tersebut sebagai imunomodulator pada manusia.

PRAKATA

Puji dan syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas berkah rahmat dan karunia Nya maka penelitian dengan judul “Efek Polifenol Teh Hijau Sebagai Imunomodulator Pada Infeksi” ini dapat terlaksana dan selesai tepat waktu.

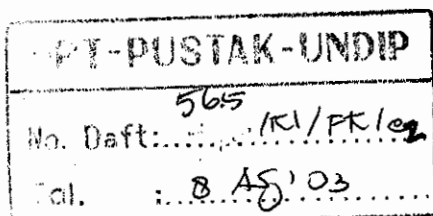
Penelitian ini mendapat dana dari Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional Tahun Anggaran 2002. Oleh karenanya pada kesempatan ini kami menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumber Daya Manusia, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional
2. Pimpinan beserta staf Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro Semarang
3. Dekan Fakultas Kedokteran UNDIP
4. Direktur Eksekutif dan Direktur Utama Laboratorium Bioteknologi Kedokteran FK UNDIP
5. Ketua Bagian : Histologi, Biokimia, Kimia Kedokteran dan Mikrobiologi di Fakultas Kedokteran UNDIP
6. Semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Demi kesempurnaan dari hasil penelitian ini kami membuka diri untuk menerima kritik serta saran dari berbagai pihak.

Kami berharap semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang berkepentingan.

Semarang, Nopember 2002



Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN TAHUN KE I	3
III. TINJAUAN PUSTAKA	4
IV. METODE PENELITIAN	9
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	20
VII. RENCANA PENELITIAN TAHAP SELANJUTNYA	21
A. TUJUAN KHUSUS	21
B. METODE	22
C. JADWAL KERJA	25
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Analisis Fagositosis Makrofag	13
Tabel 2. Hasil Analisis Produksi NO Makrofag	15
Tabel 3. Hasil Analisis Produksi ROI Makrofag	16
Tabel 4. Hasil Analisis Hitung Kuman dari Kultur Hepar.....	18
Tabel 2. Korelasi nonparametric antara fagositosis, produksi NO, produksi ROI serta hitung kuman	19

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Aktivasi system imun terhadap benda asing	5
Gambar 2. Skema mekanisme pertahanan tubuh terhadap bakteri intraseluler.....	7
Gambar 3. Grafik data fagositosis makrofag	12
Gambar 3. Grafik data produksi NO makrofag	14
Gambar 3. Grafik data produksi ROI makrofag	16
Gambar 3. Grafik data hitung kuman dari kultur hepar.....	18

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Justifikasi Anggaran	27
Lampiran 2. Personalia Peneliti	30
Lampiran 3. Foto Fagositosis Makrofag	31
Lampiran 4. Foto produksi ROI Makrofag.....	33
Lampiran 5. Foto kultur kuman pada media agar darah	35
Lampiran 6. Hasil Analisis Statistik menggunakan SPSS 10.05	36

1. PENDAHULUAN

Tanaman teh merupakan tanaman yang banyak ditanam di perkebunan di Indonesia untuk diolah menjadi bahan minuman dan sudah banyak dijual di pasaran. Dalam proses pengolahan daun tanaman teh *Camelia sinensis*, dapat dihasilkan teh hitam (daun teh yang teroksidasi) dan teh hijau (daun teh yang tidak teroksidasi). Teh hijau kering memiliki kandungan minimal 15 % sampai 30 % senyawa polifenol.¹⁻⁷ Polifenol teh hijau, merupakan *crude extract* teh hijau dan bahan aktif murni dalam polifenol yaitu *Epigallocatechin gallate (EGCg)* dan *Epigallocatechin (EGC)*.

Polifenol teh hijau dilaporkan dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi, yaitu membantu dalam proses fagositosis dengan cara menghambat kerja enzim hialuronidase. Enzim tersebut berperan mengakibatkan kerusakan membran fagosit ketika memfagositosis bacteria, sehingga kemampuan makrofag hilang.⁸ Dengan penghambatan enzim hialuronidase maka makrofag akan tetap berfungsi baik.

Teh hijau yang diminum selama 2 minggu dapat meningkatkan ketahanan limfosit dari penderita diabetes terhadap kerusakan DNA akibat *standard oxidative challenge* dengan hidrogen peroksida. Efek tersebut dibutuhkan oleh sistem imun sebab pada penderita yang terinfeksi bacteria terjadi peningkatan produksi senyawa oksigen reaktif.⁹ Teh hijau juga dapat meningkatkan respons proliferasi limfosit,¹⁰ meningkatkan daya fagositosis makrofag dan meningkatkan sekresi IL-12 makrofag pada mencit yang diinokulasi *L.monocytogenes*.^{11, 12}

Dari penelitian-penelitian tersebut di atas, belum ada yang meneliti tentang efek dari ekstrak polifenol atau masing-masing komponen polifenol yaitu EGCg (kandungan sebesar 59,04 %) dan EGC (kandungan sebesar 19,28%) terhadap proses pembunuhan bakteri (*bacterial killing*) oleh makrofag.

Penyakit infeksi di Indonesia masih merupakan penyakit yang menonjol, sehingga untuk mengatasinya antibiotika dan imunostimulan mempunyai peran sangat penting. Antibiotika bukan merupakan satu-satunya obat untuk menyembuhkan penyakit infeksi, karena faktor lain seperti status kekebalan penderita memegang peranan yang penting¹³

Imunitas seluler mempunyai peranan dalam pertahanan melawan penyakit infeksi, terutama yang disebabkan oleh bakteri patogen intra seluler, jamur, virus dan protozoa.^{13, 14}

Respons imun seluler (*cell mediated immunity*) pertama kali dilaporkan oleh George Mackaness pada tahun 1950 sebagai kekebalan terhadap bakteri intraseluler *Listeria monocytogenes*. Bakteri intraseluler menstimulasi makrofag mensekresikan IL-12 yang mengaktifkan sel NK dan juga menstimulasi perkembangan sel T_{H1} dan mengaktifkan sel T CD8⁺. Ke tiga jenis sel yang teraktifkan tersebut mensekresikan *interferon gamma* (IFN- γ) yang akan mengaktifkan makrofag sehingga makrofag tersebut dapat membunuh bakteri intraseluler.¹⁴ Senyawa polifenol dilaporkan mempunyai efek meningkatkan proliferasi limfosit, meningkatkan produksi IL-12 dan meningkatkan fagositosis,^{10,11,12} maka diperkirakan bahwa senyawa polifenol akan memberikan efek yang menguntungkan kepada rangkaian imunitas seluler seperti yang disebutkan diatas. Sehingga *bacterial killing* juga akan meningkat dan efeknya sebagai imunomodulator.

Kalau efek polifenol teh hijau serta komponen aktifnya yaitu EGCg dan EGC terhadap mekanisme pertahanan tubuh untuk melawan infeksi bakteri sudah diketahui, maka akan dilanjutkan dengan penelitian uji toksisitas dan uji klinis pada hewan coba. Uji toksisitas akut merupakan prasyarat formal keamanan obat tradisional untuk pemakaian pada manusia. Uji ini menyangkut pemberian beberapa dosis tunggal yang meningkat secara teratur pada beberapa kelompok hewan coba dari jenis yang sama. Uji klinis pada hewan coba merupakan uji klinis tahap awal, untuk melihat efektifitas bahan yang dicobakan pada hewan yang diinfeksi, untuk melihat efek imunomodulatornya berdasar survival dan efek selulernya. Dengan demikian maka efek imunomodulator dapat dibuktikan dan proyeksi pemakaian pada manusia dengan infeksi kuman intra seluler akan sangat besar, karena manfaatnya juga besar, namun sebelumnya perlu diberikan pada manusia sehat sebagai sukarelawan.

Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah : **Penemuan baru** tentang substansi didalam polifenol teh hijau yang berfungsi sebagai **imunomodulator** pada penyakit infeksi, khususnya penyakit infeksi karena kuman intra seluler.

Rumusan Masalah Tahun ke I :

1. Apakah polifenol teh hijau ataupun komponen aktifnya yaitu EGCg maupun EGC dapat sebagai imunomodulator dalam meningkatkan kemampuan fagositosis dan membunuh