

**PENGARUH PEMBERIAN *EPIGALLOCATECHIN GALLATE*
(*EGCG*) TEH HIJAU TERHADAP KADAR EOSINOFIL PADA
MENCIT YANG DISENSITISASI DENGAN OVALBUMIN**

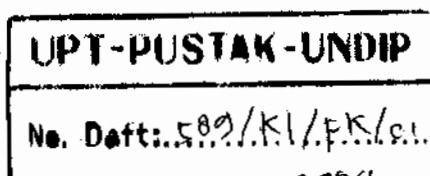


LAPORAN PENELITIAN DIK RUTIN

OLEH :
DWI NGESTININGSIH
DIANA NURHAYATI
INNAWATI JUSUP

**BAG. BIODIVERSITAS
FAKULTAS KEDOKTERAN UNDIP
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2003**

Dibiayai oleh Dana DIK RUTIN UNDIP No.02/J07.11.PJJ/KP/2003, tgl 1 Mei 2003



1. Judul penelitian : PENGARUH PEMBERIAN EPIGALLOCATECHIN GALLATE (EGCG) TEH HIJAU TERHADAP KADAR EOSINOFIL PADA MENCIT YANG DISENSITISASI DENGAN OVALBUMIN

2. Ketua Peneliti

- a. Nama lengkap : Dwi Ngestiningsih, dr, MKes
- b. Jenis kelamin : Perempuan
- c. Golongan dan NIP : III a NIP .132 148 467
- d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- e. Fakultas : Kedokteran

3. Anggota Peneliti : 1. dr. Diana Nurhayati, MKes
2. dr. Innawati Yusup, MKes

4. Lokasi penelitian : Laboratorium Biokimia FK UNDIP

5. Lama penelitian : 6 bulan

6. Biaya penelitian : Rp. 3.000.000,- (tiga juta rupiah)

Semarang, 15 – 10 - 2003

Mengetahui

Pembantu Dekan I

Universitas Kedokteran UNDIP

Dr. A. Anon Surendro, PAK

NIP.130 368 072

Ketua Peneliti



Dwi Ngestiningsih, dr, MKes

NIP .132 148 467

Menyetujui

Ketua Lembaga Penelitian UNDIP

Dr. I. Riwanto, dr, SpB

NIP.130 529 454



ABSTRACT

Epigallocatechin gallate (EGCg) is a major form of tea catechin and has a variety of biological activities, including anti tumor, anti microba and anti allergy.

T lymphocyte have been implicated in the pathogenesis of allergic disease. T helper lymphocytes can be broadly divided into two subsets T_H1 and T_H2 based on their cytokine secretion patterns. T_H1 cells released IFN γ and IL-2 whereas T_H2 cells release IL-4, IL-5 and IL-13 cytokines which act on B cells to result in switch to IgE and also are involved in mobilization and activation of cells such as eosinophils and mastcells which is often associated with allergic. It is also clear that the two CD^+4 T cells subset can regulate each other; once one subset become dominant, it is often hard to shift the response to the other subset.

The objective of this study was to investigate the effect of Epigallocatechin gallate from green tea on reduce allergy response in BALB/c mice sensitized with ovalbumin.

Subject included 24 BALB/c mice 6 wk of age, divided into 4 groups. For the induction of allergic reaction, BALB/c mice were immunized intraperitoneally with 100 ug OVA in 0,1 ml alum on day 1 and day 14. BALB/c mice were given EGCg supplementation for 28 days as immunomodulator. Peripheral blood sample and spleenocyte were taken on day 29. Eosinophil / 100 leukocyte was counted by differential counting of Leukocyte from peripheral blood smear staining with Giemsa.

The result of this study show that EGCg could decrease eosinophil/100 leukosit in peripheral blood significantly ($p < 0,05$).

Key words : Epigallocatechin gallate, allergy response, eosinofil.

ABSTRAK

Epigallocatechin gallate (EGCg) merupakan jenis catechin yang paling besar jumlahnya di dalam daun teh hijau yang memiliki efek menguntungkan bagi kesehatan sebagai anti tumor, anti mikroba dan anti alergi.

Sel T limposit diduga terkait dengan patogenesis terjadinya alergi. Sel T helper dapat dibagi menjadi dua subset, T_H1 dan T_H2 , berdasarkan sitokin yang diproduksi. T_H1 dapat melepaskan $IFN-\gamma$ dan IL-2, sementara itu T_H2 dapat mensekresi IL-4, IL-5 dan IL-13 yang akan mempengaruhi sel B untuk menghasilkan IgE dan bertanggung jawab terhadap mobilisasi dan aktivasi eosinofil dan sel mast yang biasanya dihubungkan dengan alergi. Subset sel T $CD 4^+$ ini dapat saling mempengaruhi, sekali salah satu subset menjadi dominan, maka sangat sulit bagi subset yang lain untuk jadi dominan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh *Epigallocatechin gallate* teh hijau terhadap respon alergi mencit BALB/c yang disensitisasi dengan ovalbumin.

Subyek penelitian adalah mencit galur BALB/c, umur 6 minggu sebanyak 24 ekor. Untuk menginduksi reaksi alergi mencit disensitisasi 100 ug OVA dalam 0,1 ml alum adjuvant i.p pada hari 1 dan 14, dan diberi suplementasi EGCg selama 28 hari sebagai imunomodulator. Pada hari ke 29 diambil sampel dari darah tepi dan limpa untuk dilakukan pemeriksaan. Eosinofil / 100 leukosit diperiksa dengan cara melakukan hitung jenis leukosit dari preparat hapus darah tepi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian EGCg mampu menurunkan jumlah eosinofil /100 leukosit darah tepi BALB/c yang disensitisasi OVA menurun bermakna ($p < 0,05$).

Kata kunci : : *Epigallocatechin gallate*, respon alergi, eosinofil.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Teh (*Camellia sinensis*) telah dipakai sebagai minuman sehari – hari sejak ribuan tahun yang lalu di China. Dan sekarang teh merupakan minuman kedua yang paling banyak dikonsumsi manusia setelah air.¹ Secara tradisional teh banyak diketahui memiliki efek biologi yang menguntungkan bagi kesehatan, meskipun efek tersebut belum banyak dibuktikan di laboratorium sebelum tahun 1970-an.¹

Komponen aktif teh yang bertanggung jawab terhadap efek biologi tersebut dikenal sebagai *catechin* (juga dikenal sebagai polifenol). Senyawa polifenol tersebut merupakan kandungan aktif teh hijau yang memiliki efek terhadap sistem imun.^{2,3} Daun teh hijau kering memiliki kandungan 15 – 30% senyawa polifenol yang terdiri dari *Epigallocatechin gallate* (EGCg) (59,04%), *Epigallocatechin* (EGC) (19,28%), *Epicatechingallate* (ECG) (13,69%), *Epicatechin* (EC) (6,39%) dan *Gallocatechin* (GC) (1,60%).^{2,3}

EGCg merupakan catechin utama yang terdapat di ekstrak teh dan merupakan bentuk yang paling aktif diantara semua jenis catechin serta memiliki efek biologi yang paling besar dibanding catechin yang lain. EGCg memiliki efek antikanker⁴, antimikroba^{5,6,7}, antioksidan^{4,7,8} dan anti alergi^{1,9}.

EGCg dikenal memiliki efek imunomodulator setelah diketahui bioavailibilitasnya di plasma sangat tinggi setelah seseorang minum teh.¹⁰ EGCg terbukti dapat menstimulasi produksi interleukin-1 alpha (IL-1 α), IL-1 β , dan *tumour necrosis factor alpha* (TNF α) oleh kultur sel mononuklear perifer.¹¹ EGCg juga memiliki efek proteksi terhadap radiasi ultraviolet yang menyebabkan immunosupresi dan immunotoleransi, dimana EGCg akan menyebabkan berkurangnya produksi IL-10 dan meningkatnya produksi IL-12 di sel epidermal dan dermal.⁴ Pemberian *Epigallocatechin gallate* in vitro meningkatkan produksi interleukin-12 dan interferon-

gamma (IFN- γ) serta menurunkan produksi interleukin-10 pada kultur makrofag.¹² EGCg juga dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast pada tikus yang disensitisasi albumin.¹³ Meskipun dikenal sebagai anti alergi, efek imunomodulator EGCg terhadap sel imun terutama sel T_{H2} belum diteliti secara rinci.

Saat ini prevalensi terjadinya atopi yang merupakan predisposisi terjadinya penyakit alergi meningkat di seluruh dunia dibandingkan 20 tahun yang lalu. Di Negara Inggris angka kejadian asma meningkat rata-rata 5 % tiap tahunnya. Hal yang sama juga terjadi di Swedia, Switzerland, Amerika Serikat, Australia dan negara-negara Asia seperti Taipei, dan Jepang. Di negara berkembang sendiri hampir 30 – 40 % penduduknya memiliki atopi yang manifestasinya berupa asma (5 – 10%), rhinitis (10 – 20%) dan alergi makanan (10 – 20 %), dermatitis atopik (10%).¹⁴ Kondisi tersebut terjadi tampaknya disebabkan adanya pemikiran mengenai “hipotesis higiene” dimana angka kejadian infeksi pada masa balita berkurang oleh karena meningkatnya taraf kehidupan sehingga angka kejadian alergi malah meningkat. Hal tersebut didukung oleh adanya paradigma keseimbangan T_{H1}-T_{H2} yang merupakan fokus penting dalam mempelajari imunologi terutama mengenai terjadinya alergi.¹⁴

Studi mengenai keseimbangan T_{H1}-T_{H2} tersebut mempelajari peranan limfosit T beserta subsetnya pada respon imun seluler. Mosmann dkk.(1986), mengemukakan bahwa pada *clone* sel T mencit dapat dibagi menjadi dua subset berdasarkan perbedaan produksi sitokin dan limfokinnya. Subset tersebut disebut T_{H1} dan T_{H2}. T_{H1} yang teraktivasi akan memproduksi IL-12, IFN- γ dan limpotoksin akan tetapi tidak memproduksi IL-4, IL-5 dan IL-10. Kebalikannya T_{H2} yang teraktivasi akan memproduksi IL-4, IL-5 dan IL-10 dan tidak memproduksi IFN γ dan IL-12 maupun limpotoksin.¹⁴ Dilihat dari produksi sitokin tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa T_{H1} berperan pada imunitas seluler dan sel T_{H2} berperan menstimulasi sel limfosit B untuk memproduksi IgE dan berperan terhadap terjadinya alergi.^{15,16}

Pada studi yang dilakukan Shinbara M. dkk (1996), ditemukan bahwa pada mencit yang disensitisasi dengan ovalbumin akan menunjukkan gejala alergi.¹⁵ Pada penderita alergi biasanya subset sel T-nya akan berkembang ke arah T_{H2} dominan.¹⁴ Perkembangan sel T ke arah T_{H2} dominan tersebut ditandai dari meningkatnya IL-4, IL-

5, IL-10, dan IL-13.^{15, 16, 17,18} IL-4 yang diproduksi T_H2 (dikenal sebagai *B- Cell activating or differentiation factor-1*) akan bertindak sebagai sitokin yang menginduksi aktivasi dan diferensiasi sel B dan mampu menginduksi MHC II dan FcεRII yang diekspresikan sel B sehingga memacu produksi IgE yang banyak terjadi pada penderita alergi.¹⁶ Dan pada saat yang sama IL-4 akan menghambat produksi *proinflammatory* sitokin seperti IL-1 dan TNF α oleh makrofag.¹⁷ IL-5 yang diproduksi T_H2 akan merangsang pertumbuhan dan aktivasi faktor eosinofil yang bertanggung jawab terhadap terjadinya eosinofilia.^{17,18} IL-5 juga dapat meningkatkan kemampuan eosinofil untuk bermigrasi ke jaringan. Pada manusia yang sehat, jumlah eosinofilnya berkisar antara 2 – 4 % dari seluruh leukosit darah perifer. Sedangkan pada penderita alergi, eosinofil akan terakumulasi pada jaringan tertentu diikuti dengan peningkatan eosinofil darah perifer.¹⁸ Eosinofil dan sel T_H2 merupakan sel inflamatori yang bertanggung jawab terhadap patogenesis terjadinya alergi pada penyakit asma, rinitis alergi, dan dermatitis atopi.^{18,19}

Ovalbumin sebagai bahan yang dapat merangsang pembentukan respon imun ke arah T_H2 dominan merupakan protein utama yang berasal dari putih telur ayam berupa glikoprotein dengan berat molekul 45.000 dalton. Ovalbumin merupakan alergen yang bertanggung jawab terhadap terjadinya reaksi alergi tipe I pada manusia.²⁰ Ovalbumin sebagai bahan yang sering dipakai pada banyak penelitian untuk mengarahkan respon imun seluler ke arah T_H2 dominan dapat diberikan secara inhalasi, oral maupun intra peritoneal. Sensitisasi dengan ovalbumin baik secara inhalasi, oral maupun intraperitoneal terbukti dapat merubah kecenderungan respon imun mencit ke arah T_H2. Hal tersebut dibuktikan pada banyak penelitian^{21,22,23}

Dalam penelitian ini kami ingin mengetahui pengaruh pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCg) teh hijau terhadap respon alergi (T_H2 dominan) mencit BALB/c yang disensitisasi dengan ovalbumin secara intraperitoneal jumlah hitung jenis eosinofil darah perifer .

1.2. Perumusan Masalah

- Apakah *Epigallocatechin gallate* (EGCg) teh hijau berpengaruh terhadap penurunan respon alergi (T_H2 dominan) mencit yang disensitisasi ovalbumin dilihat dari hitung jenis eosinofil darah perifer.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum :

- Membuktikan bahwa *Epigallocatechin gallate* (EGCg) teh hijau dapat menurunkan respon alergi (T_H2 dominan) mencit yang disensitisasi ovalbumin dilihat dari hitung jenis eosinofil darah perifer.

1.3.2. Tujuan khusus

1. Membuktikan adanya perbedaan produksi interferon gamma (IFN- γ) oleh limposit mencit yang disensitisasi ovalbumin dan diberi *Epigallocatechin gallate* teh hijau dengan mencit yang disensitisasi ovalbumin dan tidak diberi *Epigallocatechin gallate* teh hijau
2. Membuktikan adanya perbedaan hitung jenis eosinofil darah perifer pada mencit yang disensitisasi ovalbumin dan diberi *Epigallocatechin gallate* teh hijau dengan mencit yang disensitisasi ovalbumin dan tidak diberi *Epigallocatechin gallate* teh hijau

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan *Epigallocatechin gallate* (EGCg) yang merupakan komponen paling aktif teh hijau sebagai imunomodulator untuk alergi sehingga dapat dipakai sebagai suplemen alternatif.

Hasil penelitian pada hewan coba ini diharapkan juga dapat dijadikan landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai efek EGCg teh hijau terhadap respon imun alergi pada manusia.