

**PENGARUH PEMBERIAN *EPIGALLOCATECHIN GALLATE*
(EGCg) TEH HIJAU TERHADAP KADAR INTERFERON – γ
MENCIT BALB/c YANG DISENSITISASI DENGAN OVALBUMIN**



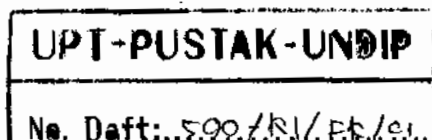
LAPORAN PENELITIAN DIK RUTIN

OLEH :

DIANA NURHAYATI
DWI NGESTININGSIH
INNAWATI JUSUP

**BAG. BOKIMIA
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 EPIGALLOCATECCHIN GALLATE (EGCG) TEH HIJAU TERHADAP KADAR INTERFERON- γ (IFN- γ) MENCIT BALB/c YANG DISENSITISASI DENGAN OVALBUMIN

2. Ketua Peneliti

- a. Nama lengkap : Diana Nurhayati, dr, MKes
- b. Jenis kelamin : Perempuan
- c. Golongan dan NIP : III b / NIP .132 232 469
- d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- e. Fakultas : Kedokteran

- 3. Anggota Peneliti** : 1. dr. Dwi Ngestiningsih, MKes
2. dr. Innawati Yusup, MKes

- 4. Lokasi penelitian** : Laboratorium Biokimia dan Lab. Bioteknologi FK UNDIP
5. Lama penelitian : 6 bulan
6. Biaya penelitian : Rp. 3.000.000,-

Semarang, 15 Oktober 2003

Mengetahui

Pembantu Dekan I

Fakultas Kedokteran UNDIP



A. Anon Sulendro, PAK

NIP. 130 368 072

Ketua Peneliti

Diana Nurhayati, dr ,MKes

NIP. 132 232 469

Menyetujui

Ketua Lembaga Penelitian UNDIP



Dr. I. Riwanto, dr, SpB

NIP.130 529 454

DAFTAR ISI

	Hal.
1. Halaman Judul	1
2. Daftar isi	2
3. Abstrak	3
4. Bab I. Pendahuluan	5
5. Bab II. Tinjauan Pustaka	10
6. Bab III. Kerangka Teori, Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian	29
7. Bab IV. Metodologi penelitian	32
8. Bab V. Hasil Dan Pembahasan	47
9. Bab VI. Simpulan Dan Saran	55
10. Bab VII. Ringkasan	57
11. Daftar Pustaka	60
12. Biodata Peneliti	66

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.

Atopi merupakan respon tubuh terhadap paparan antigen dari lingkungan yang ditandai oleh produksi IgE spesifik. Keadaan atopi biasanya dihubungkan dengan penyakit alergi seperti asma, *hay fever* dan eksema. 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 diproduksinya. T_H1 dapat melepaskan IFN- γ 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 interferon gamma dalam menurunkan 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 limpa untuk dilakukan pemeriksaan. Konsentrasi IFN- γ diukur dengan metode ELISA dari kultur splenosit.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian EGCg meningkatkan kadar IFN- γ pada BALB/c yang disensitisasi OVA meskipun secara statistik tidak bermakna ($p > 0,05$).

Kata kunci : : *Epigallocatechin gallate*, respon alergi, Interferon gamma.

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.

Atopy is defined as the production of specific IgE in response to exposure to common environmental allergens. Being atopy is strongly associated with allergic disease such as asthma, hay fever, and eczema. 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 interferon gamma (IFN- γ) that can 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. Spleenocyte were taken on day 29. Concentrations of IFN- γ in the spleenocyte culture were calculated with ELISA kits from murine.

The result of this study show that EGCg could increase the secretion of IFN- γ even statistically not significant ($p > 0,05$).

Key words : Epigallocatechin gallate, allergy response, Interferon gamma

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Teh (*Camellia sinensis*) telah dipakai sebagai minuman sehari – hari sejak ribuan tahun yang lalu di Cina, 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 Pemberian

EGCg in vitro diketahui dapat meningkatkan produksi interleukin-12 dan interferon-gamma (IFN- γ) serta menurunkan produksi interleukin-10 pada kultur makrofag.¹¹ EGCg juga dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast pada tikus yang disensitisasi albumin.¹² Efek imunomodulator EGCg terhadap sel imun terutama sel T_H2 belum diteliti secara rinci, meskipun EGCg dikenal sebagai anti alergi.

Saat ini prevalensi terjadinya atopi yang merupakan predisposisi terjadinya penyakit alergi meningkat di seluruh dunia dibandingkan 20 tahun yang lalu. Angka kejadian asma meningkat rata-rata 5 % tiap tahunnya di Inggris. Hal yang sama juga terjadi di Swedia, Switzerland, Amerika Serikat, Australia dan negara-negara Asia seperti Taipei, dan Jepang. Pada negara berkembang 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.¹³

Studi mengenai keseimbangan T_H1-T_H2 tersebut mempelajari peranan limfosit T beserta subsetnya pada respon imun seluler. Studi tersebut 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-2, IFN- γ dan limfotoksin 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-2 maupun limfotoksin.¹³ 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.^{14,15}

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.^{14,15, 16, 17} IL-4 yang diproduksi T_H2 akan bertindak sebagai sitokin yang menginduksi aktivasi dan diferensiasi sel B dan mampu menginduksi MHC II dan Fc ϵ RII yang diekspresikan sel B sehingga memacu produksi IgE yang banyak terjadi pada penderita alergi.¹⁶ IL-5 yang diproduksi T_H2 akan merangsang pertumbuhan dan aktivasi faktor eosinofil yang bertanggung jawab terhadap terjadinya eosinofilia.^{16,17} IL-5 juga dapat meningkatkan kemampuan eosinofil untuk bermigrasi ke jaringan. Jumlah eosinofil manusia yang sehat 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.^{17,18}

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.¹⁹ 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^{20,21,22}

Penelitian ini dilakukan oleh peneliti untuk mengetahui pengaruh pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCg) teh hijau terhadap respon alergi (T_H2 dominan) mencit BALB/c yang disensitisasi dengan ovalbumin secara intraperitoneal dilihat dari produksi interferon gamma.

1.2. Perumusan Masalah

- Apakah *Epigallocatechin gallate* (EGCg) teh hijau berpengaruh terhadap penurunan respon alergi (T_H2 dominan) mencit BALB/c yang disensitisasi ovalbumin dilihat dari produksi interferon gamma (IFN- γ).

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum :

- Membuktikan bahwa *Epigallocatechin gallate* (EGCg) teh hijau dapat menurunkan respon alergi (T_H2 dominan) mencit BALB/c yang disensitisasi ovalbumin dilihat dari produksi interferon gamma (IFN- γ).