

INDUKSI EPIGALLOCATECHIN GALLATE EKSTRAK TEH TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS SEL MONONUKLEAR TIKUS WISTAR

(PHAGOCYTTIC ACTIVITY OF THE MONONUCLEAR CELLS INDUCED BY
EPIGALLOCATECHIN GALLATE TEA EXTRACT)

Juni Handajani

Bagian Biologi Oral
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta 55281
E-mail: junihandajani@yahoo.com

Abstract

Epigallocatechin gallate (EGCG) represents one of the tea s (*Camellia sinensis*) polyphenol component. The aim of this study was to investigate the phagocytic activity of the mononuclear cells induced by EGCG. The subjects were 20 male Wistar rats, which divided into two groups (treatment and control). In the treatment group, 0.1% EGCG was oral administration for 14 days and the control group used aquabidest. Mononuclear cells were isolated from shedlood of the rats and tested for phagocytic activity. The result showed that there was significant difference in the index of phagocytosis between treatment and control group ($p<0.05$). It can be concluded that the EGCG can increase the phagocytic activity of mononuclear cells.

Keywords: *Epigallocatechin gallate*, tea extract, phagocytic activity, mononuclear cell

Abstrak

Epigallocatechin gallate (EGCG) merupakan salah satu komponen polifenol dalam ekstrak teh (*Camellia sinensis*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fagositosis sel mononuklear tikus Wistar setelah diinduksi dengan EGCG. Subjek penelitian terdiri atas 20 ekor tikus Wistar jantan dibagi menjadi 2 kelompok (perlakuan dan kontrol), masing-masing kelompok terdiri atas 10 ekor. Kelompok perlakuan diberi minum EGCG konsentrasi 0,1% dan kelompok kontrol diberi aquabides selama 14 hari. Sampel berupa sel mononuklear yang diisolasi dari darah tikus kemudian diuji aktivitas fagositosisnya menggunakan metode uji fagositosis sel mononuklear. Hasil penelitian menggunakan uji-t menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna indeks fagositosis kelompok perlakuan dibanding kontrol ($p<0,05$). Disimpulkan bahwa EGCG konsentrasi dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel mononuklear.

Kata kunci: *Epigallocatechin gallate* , ekstrak teh, aktivitas fagositosis, sel mononuklear

PENDAHULUAN

Komposisi fraksi daun teh terdiri atas *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) 49%, *epicatechin-3-gallate* (ECG) 14%, *epigallocatechin* (EGC) 11%, *epicatechin* (EC) 6%, kafein 0,8%, asam amino (*L-theanine*) 0,3%, dan komponen lain (mineral, flavonol, *volatile oil* dan lain-lain) 16,9%.¹ Keempat komponen polifenol atau katekin merupakan antioksidan yang penting. Di antara empat komponen tersebut EGCG merupakan komponen yang paling

potensial² dan secara kimia memiliki aktivitas biologis yang paling kuat.³

Kandungan polifenol ekstrak teh memiliki efek bakteristatik ataupun bakterisid tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Ekstrak teh hijau mampu membunuh *Streptococcus mutans* mulai konsentrasi 2%.^{4,5} Polifenol teh diketahui juga dapat menghambat perlekatan *Porphyromonas gingiva lis* pada sel epitelium bukal sehingga dapat mengterjadinya penyakit periodontal. Pertumbuhan bakteri plak dapat dihambat oleh polifenol teh dengan

konsentrasi sekitar 250-1000 μg per ml.⁶ Hasil penelitian Handajani dkk. menunjukkan bahwa aktivitas fagositosis sel makrofag tikus Wistar meningkat setelah diinduksi ekstrak daun teh segar dengan konsentrasi 2%.⁷

Sel mononuklear yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh melawan invasi bakteri dengan cara fagositosis adalah makrofag. Makrofag juga mempunyai kemampuan untuk memproduksi sitokin yang berperan dalam proses fagositosis yaitu IL-1 β , IL-6, IL-8 dan TNF α . Sitokin ini diketahui dapat memediasi makrofag pada inisiasi reaksi inflamasi. Proses fagositosis diawali adanya bakteri dikenali dan diikat oleh reseptor sel fagosit kemudian ditelan. Selanjutnya reseptor mengirimkan sinyal untuk mengaktifkan enzim-enzim yang terdapat pada fagolisosom yang berperan untuk membunuh bakteri tersebut.⁸

Fagositosis dapat diinduksi oleh adanya invasi bakteri pada hospes. Proses fagositosis tersebut ditunjukkan adanya ingesti (penelanan) dan penghancuran terhadap mikroorganisme sebagai benda asing dalam hospes. Sifat hidrofobik pada permukaan benda asing berperan terhadap proses terjadinya fagositosis, benda asing akan mudah ditelan oleh sel fagosit apabila lebih hidrofobik dibandingkan sel fagosit. Bakteri non patogen mudah ditelan oleh sel fagosit karena lebih hidrofobik dibandingkan sel fagosit, sedangkan bakteri patogen biasanya dibungkus kapsul sehingga sulit ditelan oleh sel fagosit.⁹

Proses fagositosis terdiri atas pengikatan sel target pada permukaan sel fagosit, penelanan dan stimulasi

a

Indeks fagositosis (IF) dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$\text{Indeks Fagositosis (IF)} = \frac{a \times b}{c}$$

Keterangan :

- a: jumlah bakteri yang difagosit oleh satu sel mononuklear
- b: jumlah sel mononuklear yang memfagositosis
- c: jumlah sel mononuklear dalam sediaan

Hasil penghitungan IF dianalisis dengan uji-t. Peningkatan (stimulasi) atau penurunan (supresi) aktivitas fagositosis dapat diketahui dengan menghitung rata-rata fagositosis dalam persen sebagai berikut :

$$\text{PF} = \frac{\text{IF bahan yang diuji} - \text{IF kontrol}}{\text{IF (kontrol)}} \times 100 \%$$

HASIL

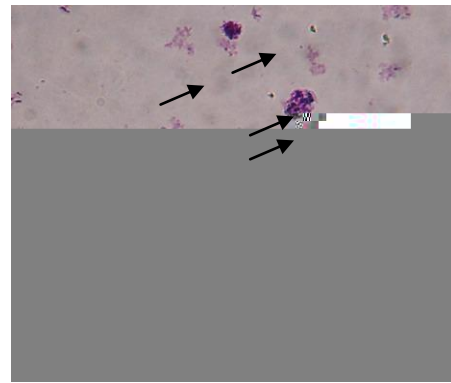
Hasil isolasi sel mononuklear ditampilkan dalam Gambar 1. Sel mononuklear terdiri atas makrofag dan limfosit, sedangkan sel mononuklear yang mempunyai kemampuan fagositosis adalah makrofag (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil isolasi sel mononuklear dari darah tikus Wistar. Sel mononuklear terdiri atas makrofag dan limfosit

Gambar 2 menunjukkan aktivitas fagositosis sel mononuklear terhadap bakteri *A.actinomyetemcomitans*. Kemampuan fagositosis satu sel mononuklear untuk memfagosit bervariasi dari 2 sel sampai 12 bakteri.

Aktivitas fagositosis setiap sel mononuklear tikus Wistar setelah pemberian induksi EGCG 0,1% mengalami perubahan. Hal ini dapat diketahui dari hasil perhitungan nilai rata-rata Indeks Fagositosis (IF) yang dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Sel mononuklear sedang memfagosit bakteri. Tampak bakteri *A.actinomyetemcomitans* (warna hitam) berada dalam sel mononuklear. Kemampuan satu sel mononuklear memfagosit bakteri bervariasi antara 2 sampai dengan 12 bakteri

Tabel 1. Hasil rerata dan standar deviasi indeks fagositosis (IF) sel mononuklear setelah diinduksi EGCG 0,1% dan aquadest (kontrol)

Kelompok perlakuan	Indeks fagositosis
	$\bar{X} \pm SD$
EGCG 0,1 %	2,91 \pm 0,51
Kontrol	1,49 \pm 0,43

Normalitas data indeks fagositosis dianalisis menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah data kurang dari 50. Hasil perhitungan normalitas data menunjukkan $p > 0,05$ atau dapat diartikan distribusi data normal. Kemaknaan peningkatan aktivitas fagositosis sel mononuklear setelah induksi EGCG 0,1% dibandingkan dengan kontrol selanjutnya dianalisis menggunakan uji-t. Induksi EGCG 0,1% berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibanding kontrol. Nilai Persentase Fagositosis (PF) sel mononuklear adalah 113,36%

PEMBAHASAN

Histopaque digunakan untuk mengisolasi sel mononuklear dari darah tikus *Wistar*. Sel mononuklear yang diperoleh terdiri atas makrofag dan limfosit. Hasil sel mononuklear yang mempunyai kemampuan fagositosis adalah makrofag. Sistem fagosit mononuklear merupakan salah satu populasi sel sistem imun dan terdiri atas sel-sel yang mempunyai fungsi utama fagositosis. Fagosit mononuklear dahulu dimasukkan ke dalam sistem retikuloendotelial yang meliputi makrofag yang terdapat di dalam jaringan ikat, mikroglia pada sistem saraf

pusat, sel endotelial pada sinusoid vaskuler dan sel retikuler yang terdapat pada organ limfoid. Sifat sel fagosit mononuklear sangat berbeda dengan sel-sel retikuloendotelial lainnya sehingga kelompok sel ini tidak lagi dimasukkan dalam sistem retikuloendotelial, dan digolongkan dalam kelompok sistem fagosit mononuklear yang meliputi sel monoblast, promonosit dan makrofag.¹⁴

Semua sel dalam sistem fagosit mononuklear berasal dari *hemopoetic stem cell* di dalam sumsum tulang, yang setelah mengalami pemasakan dan aktivasi dapat menjadi berbagai bentuk morfologis. Makrofag dan prekursornya yaitu monosit, promonosit, dan monoblas terdapat di dalam sumsum tulang. Monoblas adalah bentuk muda sistem fagosit mononuklear. Pada stadium monoblas, di dalam sel masih banyak ditemukan lisozime dan esterase, meskipun enzim tersebut sangat sedikit jumlahnya. Semua monoblas mempunyai reseptor untuk IgG dan dapat memfagositosis eritrosit yang diopsonisasi dengan IgG. Monoblas akan membelah menjadi 2 promonosit, di dalamnya masih terdapat lisozim, esterase, dan peroksidase. Kebanyakan promonosit mempunyai reseptor Fc IgG, reseptor C3b, memfagositosis eritrosit yang

dungan ekstrak daun teh lebih bermanfaat karena senyawa-senyawanya tidak dipisahkan dan dapat saling bekerja sama. *Epigallocatechin gallate* sebagai hasil ekstraksi satu komponen senyawa daun teh kemungkinan sudah tidak mengandung senyawa lainnya, sehingga efeknya tidak maksimal. Dapat disimpulkan bahwa induksi EGCG konsentrasi 0,1% dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel mononuklear tikus Wistar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. drg. Al. Supartinah S, SU, SpKGA, Prof. dr. Marsetyawan, PhD dan Prof. drh. Widya Asmara, PhD atas bimbingannya selama proses penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Nune SK, Chanda N, Shukla R, Katti K, Kulkarni RR, Thilakavathy S, Mekapothula S, Kannan R, Katti KV. Green nanotechnology from tea: phytochemicals in tea as building blocks for production of biocompatible gold nanoparticles. *J Mater Chem* 2009; 19: 2912-20.
2. Peterson J, Dwyer J, Bhagwat S, Haytowitz D, Holden J, Eldridge AL, Beecher G, Aladesanmi J. Major flavonoids in dry tea. *JFCA* 2005; 18: 487-501.
3. Lakenbrink C, Lapczynski S, Maiwald B, Engelhardt UH. Flavonoids and other polyphenols in consumer brews of tea and other caffeinated beverages. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 2848-52.
4. Cho YS, Schiller NL, Oh KH. Antibacterial effects of green tea polyphenols on clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Microbiol* 2008; 57(6): 542-6.
5. Taylor PW, Hamilton-Miller JMT, Stapleton PD. Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci Technol Bull.* 2005; 2: 71-81.
6. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Natale A, Pollio A. Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia* 2009; 80: 255-62.
7. Handajani J, Al Supartinah, Marsetyawan, Asmara W. Aktivitas fagositosis sel makrofag tikus Wistar setelah diinduksi ekstrak teh (*Camellia sinensis*). *IJD* 2006; 13(1): 7-11.
8. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: WB Saunders Co, 2001.
9. Hoebe K, Janssen E, Beutler B. The interface between innate and adaptive immunity. *Nature Immunology* 2004; 5(10): 971-3.
10. Ishikawa I, Nakashima K, Koseki T, Nagasawa T, Watanabe H, Arakawa S, Nitta H., Nishihara T. Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of Periodontitis. *Periodontology* 2000; 14:79 -111.
11. Hay FC, Westwood OMR. Practical immunology, 4th Ed. London: Blackwell Scientific Publications, 2002; 203-28.
12. Kelk P, Claesson R, Hånström L, Lerner UH, Kalfas S. Abundant secretion of bioactive interleukin-1 human macrophages induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Leukotoxin. *Infect Immun* 2005; 73(1): 453-458.
13. Kumar S, Gupta P, Sharma S, Kumar D. A review on immunostimulatory plants. *JCIM* 2011; 9(2): 117-28.
14. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: WB Saunders Co, 2001.
15. Nakayama M, Akiba H, Takeda K, Kojima Y, Hashiguchi M, Azuma M, Yagita H, Okumura K. Tim-3 mediates phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation. *Blood* 2009; 113(16): 3821-30.
16. Brito RRN, Cortez BA, Machado-Santelli GM, Xander P, De Lorenzo BH, Oliveira HC, Thies FG, Kioshima ES, Maricato JT, Lopes JD, Mariano M. In vitro and in vivo phagocytic ability of mouse B-1 Cells. *Immunology Immunogenetics Insights* 2010; 2: 31-39.
17. Rogers J, Perkins I, van Olphen A, Burdash N, Klein