



**PENGARUH PEMBERIAN POLIFENOL TEH HIJAU  
TERHADAP SEKRESI  
NITRIT OKSIDA (NO) SEL FAGOSIT**

**PROPOSAL**

**Karya Tulis Ilmiah**

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

**Disusun oleh :  
Adeputri Tanesha Idhayu  
G2A002002**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2006**

## Pengaruh Pemberian Polifenol Teh Hijau Terhadap Sekresi *Nitric Oxide* dari Sel Fagosit pada Manusia

Adeputri T. Idhayu<sup>1</sup>, Andrew Johan<sup>2</sup>

### Abstrak

**Latar Belakang :** Polifenol merupakan bahan aktif yang terdapat dalam teh hijau. *Epigallocatechingallate* (EGCg) adalah salah satu komponen polifenol yang sangat potensial dalam menstimulasi produksi *interleukin-1 alpha* (IL-1 $\alpha$ ), *interleukin-1 beta* (IL-1 $\beta$ ), *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF-  $\alpha$ ), EGCg juga dapat membantu proses fagositosis, meningkatkan ketahanan limfosit, proliferasi limfosit, sekresi IL-12 makrofag, dan meningkatkan IFN- $\gamma$ . Peningkatan IFN-  $\gamma$  akan menstimulasi sel fagosit (makrofag dan neutrofil) untuk mensekresi *Nitric Oxide* (NO) yang berperan dalam sistem imun tubuh.

**Tujuan :** Membuktikan pengaruh pemberian polifenol teh hijau terhadap peningkatan sekresi NO dari sel fagosit pada manusia sehat.

**Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian *Quasi experimental* dengan rancangan *Pre and Post Test Design*. Sampel didapatkan dari 16 orang sehat yang menyatakan setuju untuk berpartisipasi, dalam penelitian ini diperiksa sekresi NO sel fagosit sebelum perlakuan, selanjutnya diberi kapsul polifenol teh hijau 350 mg dua kali sehari selama empat minggu, kemudian dilakukan pengukuran kembali pada akhir minggu ke-2 dan ke-4. Dari sample darah tepi yang didapat dilakukan pemisahan fagosit dari darah tepi tersebut dan dilakukan pemeriksaan NO menggunakan Reagen Gries. Absorbansi diukur dengan *automated microplate reader* dengan panjang gelombang 550 nm.

**Hasil :** Sekresi NO sel fagosit setelah pemberian polifenol teh hijau selama dua dan empat minggu lebih besar daripada sebelum pemberian polifenol teh hijau.

**Kesimpulan :** Pemberian polifenol teh hijau dapat meningkatkan sekresi NO dari sel fagosit.

**Kata Kunci :** Teh hijau, polifenol, sekresi NO, fagosit.

- 1) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- 2) Staf Pengajar Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## ***Green Tea Polyphenol Effect on The Level of Nitric Oxide Secreted by Phagocyte Cells***

Adeputri T. Idhayu<sup>1</sup>, Andrew Johan<sup>2</sup>

### ***Abstract***

***Back ground*** : Polyphenol is an active substance consisted in green tea. Epigallocatechingallate (EGCg) is one of polyphenol component which is very potential in stimulating the production of interleukin-1 alpha (IL-1 $\alpha$ ), interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), and Tumor Necrosis Factor alpha (TNF-  $\alpha$ ). EGCg could also help the process of phagocytosis, increased the endurance and the proliferation of lymphocyte, increased the secretion of IL-12 macrophage and the interferon- $\gamma$ . The increased of interferon- $\gamma$  would stimulate the secretion of Nitric Oxide, by phagocyte cells (macrophage and neutrophile), which has contribute in immune system.

***Objective*** : To prove the effect of Green Tea Polyphenol on Nitric Oxide Secretion by Phagocytes Cells in healthy human.

***Method*** : The experiment was conducted by using the Quasi Pre and Post Test Design. The samples were obtained from 16 healthy people who agreed to participate in the experiment. The secretion of NO by phagocyte cells were examined before, after 2 weeks, and after 4 weeks treatment of 350 mg polyphenol of green tea twice a day. Then the phagocyte cells were separated from blood and the NO secretion was measured by Gries reagent. The absorbancy was measured by automated microplate reader at 550 nm.

***Result*** : The result indicated that the secretion of Nitric Oxide by phagocyte cells after treatment of green tea polyphenol was higher than before polyphenol treatment.

***Conclusion*** : The treatment of green tea polyphenol increase the secretion of Nitric Oxide by phagocyte cells.

***Key Words*** : Green tea, Polyphenol, Nitric Oxide secretion, Phagocyte.

- 1) Student of Diponegoro University, Medical Faculty
- 2) Lecturer Staff of Biochemistry Section, Medical Faculty, Diponegoro University

## DAFTAR ISI

<b>Halaman Judul .....</b>	<b>i</b>
<b>Halaman Pengesahan .....</b>	<b>ii</b>
<b>Daftar Isi .....</b>	<b>iii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Teh Hijau.....	4
2.2 Sistem Imunitas Tubuh.....	7
2.3 Nitrit Oksida.....	9
2.4 Pengaruh NO Terhadap Sistem Imun.....	12
2.5 Hepar dan Ginjal.....	12
2.6 Kerangka Teori.....	16
2.7 Kerangka Konsep.....	17
2.8 Hipotesis Penelitian .....	17
<b>BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Ruang Lingkup Penelitian .....	18
3.2 Rancangan Penelitian .....	18
3.3 Populasi dan Sampel .....	18
3.4 Variabel Penelitian.....	19
3.5 Alat dan Bahan.....	19

3.6 Cara kerja.....	21
3.7 Data yang Dikumpulkan .....	21
3.8 Definisi Operasional Variabel .....	21
3.9 Pengolahan dan Analisa Data .....	22
3.10 Alur Penelitian .....	23

**DAFTAR PUSTAKA**

**LAMPIRAN**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Teh hitam dan teh hijau merupakan minuman ke dua setelah air yang biasa orang minum di dunia, terutama di negara-negara Asia. Selain sebagai minuman penyegar, teh juga mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan tubuh, terutama teh hijau yang khasiatnya telah banyak diteliti dan mendapat banyak perhatian masyarakat.<sup>1</sup>

Dalam teh hijau terkandung zat-zat yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh dan telah dibuktikan beberapa ahli dalam penelitian sebelumnya, salah satunya adalah polifenol. Polifenol memiliki tujuh macam bentuk *catechin* yang berbeda, yaitu: *Epigallocatechin-gallate* (EGCg), *Epigallocatechin* (EGC), *Epicatechin-gallate* (ECg), *Epicatechin* (EC), *Gallocatechin* (GC), *Catechin* (C), dan *Catechin-gallate* (Cg).<sup>2,3</sup>

Teh hijau memiliki banyak khasiat, antara lain sebagai antioksidan, antikanker, antimikroba, menurunkan kolesterol darah, mengurangi gula darah, mencegah arthritis, mencegah kerusakan hati, mencegah gigi berlubang, mencegah resiko keracunan makanan dan sebagai penurun berat badan.<sup>2,4</sup>

Beberapa penelitian sebelumnya telah memberikan bukti-bukti yang kuat mengenai bioaktivitas dari polifenol teh hijau dalam meningkatkan sistem imunitas, yaitu membantu proses fagositosis, meningkatkan sekresi INF- $\gamma$  dan respon proliferasi limfosit. Sekresi INF- $\gamma$  menyebabkan peningkatan aktivitas

fagosit, sehingga terjadi peningkatan kadar Nitrit Oksida (NO) yang disekresikan oleh fagosit.<sup>5,6,7,8</sup>

Nitrit Oksida (NO) dibentuk dalam sel-sel fagosit yang terdiri dari fagosit mononuklear (makrofag dalam jaringan tubuh dan monosit dalam sirkulasi darah), segmen neutrofil PMN (Polimorfonuklear), dan eosinofil (dalam jumlah kecil).<sup>9,10</sup>

Nitrit Oksida (NO) mempunyai banyak manfaat bagi tubuh, salah satu yang terpenting adalah peranannya dalam sistem imun tubuh. NO bekerja sama dengan lisosom makrofag membunuh patogen seperti bakteri, jamur dan virus dalam proses fagositosis.<sup>11</sup>

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas maka masalah dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut: Apakah pemberian polifenol teh hijau dapat mempengaruhi sekresi NO oleh fagosit.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian polifenol teh hijau terhadap peningkatan sekresi NO.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengukur sekresi NO oleh fagosit sebelum perlakuan.
2. Mengukur sekresi NO oleh fagosit setelah pemberian polifenol teh hijau selama dua dan empat minggu.

3. Menganalisis perbedaan antara hasil pengukuran sekresi NO oleh fagosit sebelum dan sesudah perlakuan.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang manfaat teh hijau bagi kesehatan.
2. Penggunaan teh hijau sangat dianjurkan pada penderita infeksi.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Teh Hijau

##### 2.1.1 Sekilas tentang teh hijau

Teh adalah minuman yang dihasilkan dari seduhan daun *Camelia sinensis* yang umumnya tumbuh di daerah yang beriklim tropis dengan ketinggian antara 200-2000 meter di atas permukaan laut dengan suhu cuaca antara 14-25 derajat Celsius. Pada umumnya teh sebagai bahan minuman dikelompokkan dalam tiga golongan, yaitu teh yang difermentasikan atau teh hitam (black tea), teh yang tidak difermentasikan atau teh hijau (green tea), dan teh yang setengah difermentasikan atau teh oolong (oolong tea). Proses fermentasi di atas pada dasarnya adalah proses oksidasi polifenol yang ada dalam daun teh oleh enzim polifenol oksidase.<sup>12,13</sup>

Teh hijau diproduksi dengan cara menginaktivasi enzim polifenol oksidase yang ada dalam pucuk daun teh segar, dengan cara pemanasan atau penguapan agar oksidasi enzimatik terhadap polifenol dapat dicegah, sehingga kandungan antioksidannya lebih besar dari pada teh hitam maupun teh oolong.<sup>2,12</sup>

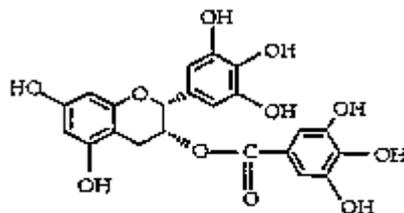
##### 2.1.2 Senyawa aktif dalam teh hijau

Daun teh mempunyai tiga komponen penting yang mempengaruhi mutu minuman, yaitu kafein yang memberikan efek stimulan, tannin yang memberikan kekuatan rasa (ketir) dan senyawa aktif yang dipercaya bertanggung jawab dalam memberikan kontribusi positif bagi kesehatan manusia, yaitu polifenol. Polifenol adalah antioksidan yang kekuatannya 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E.<sup>13,14</sup>

Dalam teh hijau terkandung lebih dari 36 persen polifenol, jumlah ini masih dipengaruhi cuaca (iklim), varietas, jenis tanah dan tingkat kematangan.<sup>15</sup>

Polifenol memiliki tujuh macam bentuk *catechin* yang berbeda, yaitu: *Epigallocatechin-gallate* (EGCg), *Epigallocatechin* (EGC), *Epicatechin-gallate* (ECg), *Epicatechin* (EC), *Gallocatechin* (GC), *Catechin* (C), dan *Catechin-gallate* (Cg).<sup>2,3,12</sup>

EGCg merupakan bentuk *catechin* yang memiliki komposisi terbanyak pada daun teh hijau. Dalam polifenol, 10 sampai 50 persen dari seluruh kandungan *catechin* berasal dari EGCg. Bahkan kebanyakan manfaat positif dari teh dan juga aktivitas antioksidan terkuat didapat dari EGCg dalam daun teh.<sup>2</sup>



(-)-Epigallocatechin-3-gallate

Selain *catechin*, teh hijau juga mengandung senyawa alkaloid seperti *cafein*, *theofilin*, *theobromine*. Komponen lainnya yang terkandung dalam teh

hijau adalah flavon, theogallin, asam chlorogenic, asam amino theanin, thenine, vitamin dan mineral.<sup>2,15</sup>

Aktivitas polifenol sebagai antioksidan yang banyak diketahui berguna untuk mencegah radikal bebas, dapat mengurangi kerusakan sel dan menghalangi pertumbuhan sel kanker. Selain itu banyak manfaat lain bagi kesehatan yang bisa dirasakan seperti membantu membakar lemak, mencegah penyakit jantung, membantu menurunkan tekanan darah, membantu melindungi diabetes, mencegah keracunan makanan, mencegah napas tak sedap, melindungi dari hepatitis, dan meningkatkan kekebalan.<sup>12</sup>

Satu cangkir teh hijau dapat mengandung 50-400 mg polifenol. Konsumsi teh hijau 20 cangkir per hari tidak menimbulkan efek samping yang nyata. Hanya saja pada dosis yang terlalu tinggi, kandungan kafein pada teh hijau dapat menyebabkan insomnia, takikardi, kecemasan, tremor dan diuresis. Pada orang yang mengkonsumsi aspirin atau obat anti koagulan lain harus berhati-hati terhadap terjadinya penghambatan agregasi platelet. Pada beberapa kasus, teh hijau dapat memperpanjang waktu perdarahan.<sup>17</sup> Wanita hamil dan menyusui sebaiknya menghindari konsumsi suplemen katekin. Bayi tidak dianjurkan diberi teh hijau, karena ada penelitian yang mengatakan teh dapat mempengaruhi metabolisme zat besi sehingga menyebabkan anemia mikrositik.<sup>16</sup>

### 2.1.3 Efek teh hijau terhadap kadar NO

Beberapa penelitian sebelumnya telah memberikan bukti-bukti yang kuat mengenai bioaktivitas dari polifenol teh hijau dalam meningkatkan sistem imunitas, yaitu membantu proses fagositosis, meningkatkan sekresi INF- $\gamma$  dan respon proliferasi limfosit.<sup>5,6,7</sup>

Meningkatnya bioavailabilitas EGCg pada plasma setelah mengonsumsi teh hijau, akan diikuti dengan peningkatan imunomodulasi dari EGCg<sup>7</sup>. Pada kenyataannya, kita mengetahui bahwa EGCg sangat potensial dalam menstimulasi produksi interleukin-1 alpha (IL-1 $\alpha$ ), interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )<sup>6</sup>, EGCg juga dapat membantu proses fagositosis<sup>5</sup>, meningkatkan ketahanan limfosit, proliferasi limfosit, dan sekresi IL-12 makrofag.<sup>6,7</sup>

Teh hijau juga meningkatkan sekresi Interferon  $\gamma$ , yang menyebabkan peningkatan aktivitas fagosit. Dengan demikian maka terjadi peningkatan sekresi Nitrogen Oksida (NO) yang dihasilkan oleh fagosit.<sup>6,7,8</sup>

## **2.2 Sistem imunitas tubuh**

Imunitas merupakan suatu mekanisme fisiologis yang berupa kemampuan untuk mengenal suatu zat asing terhadap dirinya yang selanjutnya tubuh akan mengadakan respon imun yang berbentuk netralisasi, melenyapkan atau memasukkan dalam metabolisme dengan akibat menguntungkan dirinya atau menimbulkan kerusakan jaringan tubuh sendiri.

Sistem imun merupakan suatu kumpulan sel – sel yang bertanggung jawab terhadap bentuk zat asing (non self) atau zat dari tubuh sendiri (self) yang saling berkoordinasi membentuk respon imun. Suatu zat asing yang masuk kedalam tubuh dikenal sebagai antigen<sup>10</sup>, namun ada beberapa pihak yang sering menyebut molekul yang menginduksi timbulnya respon imun sebagai imunogen.

Imunogen merupakan suatu bahan atau molekul yang dapat menimbulkan respon imun, sedangkan antigen adalah bahan yang dapat bereaksi dengan produk respon imun dan merupakan sasaran respon imun. Pada umumnya imunogen

adalah juga antigen meskipun tidak selalu demikian.<sup>18</sup> Sistem imun terpapar oleh imunogen maka ada dua respon imun yang terjadi yaitu respon imun alamiah dan respon imun spesifik. Kedua respon imun yang terjadi merupakan interaksi antar komponen dalam satu sistem imun dan saling meningkatkan efektifitasnya interaksi tersebut berlangsung bersamaan sehingga akan menghasilkan suatu aktivitas biologik yang serasi.<sup>10</sup>

Imunitas selular mempunyai peranan yang penting dalam pertahanan melawan penyakit infeksi, terutama yang disebabkan oleh bakteri patogen intraseluler, jamur, virus, dan protozoa.<sup>19</sup>

Bakteri menstimulasi makrofag untuk mensekresi IL-12 yang mengaktifkan sel NK, serta menstimulasi perkembangan sel Th1 dan mengaktifkan sel T CD8. Ketiga jenis sel tersebut mensekresi *Interferon Gamma* (IFN- $\gamma$ ) yang mengaktifkan fagosit memproduksi oksigen reaktif, menstimulasi produksi antibodi dan mengopsonisasi bakteri dengan tujuan akhir membantu fungsi efektor fagosit.<sup>9,19</sup>

Kemampuan fagosit untuk membunuh bakteri tergantung pada senyawa dependen oksigen (hydrogen peroksida, radikal hidroksil, singlet oksigen) dan independent oksigen (lisosom, laktoferin, dan protein kationik). Fagosit yang teraktifasi akan membentuk ROI, RNI dan enzim – enzim yang akan membunuh kuman – kuman yang difagosit sebagai sel efektor.

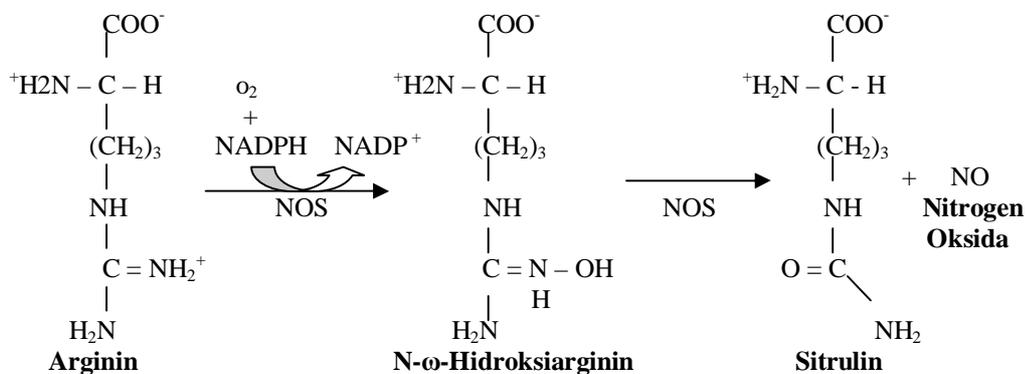
## 2.3 Nitrit oksida

### 2.3.1 Sintesa nitrit oksida

Nitrit oksida (NO) merupakan suatu radikal bebas yang disintesa oleh enzim *Nitric Oxide Synthase* (NOS) melalui reaksi yang kompleks. *Nitric Oxide Synthase* (NOS) pada manusia (dan tikus) mempunyai tiga macam bentuk, yaitu *Neuron Nitric Oxide* (nNOS atau NOS-1) yang ditemukan pada sel saraf, *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS atau NOS-2) yang ditemukan pada makrofag, dan *Endothelial Nitric Oxide* (eNOS atau NOS-3) yang ditemukan pada sel endotel pembuluh darah. Kadar nNOS dan eNOS dalam tubuh relatif stabil, sedangkan untuk kadar iNOS dipengaruhi oleh rangsangan (misalnya ingesti dari parasit).<sup>20,21,22</sup>

Stimulasi makrofag oleh *Interferon-γ* (IFN-γ), *Tumor Necrosis Factor* (TNF-α), *Interleukin*, dan *Lipopolysaccharide* (LPS) akan memacu transkripsi gen yang menyebabkan peningkatan kadar *Nitric Oxide Synthase* (NOS). Sekresi NO akan meningkat mengikuti peningkatan NOS.<sup>9,19,21</sup>

Semua tipe NOS dapat membentuk nitrit oksida dari arginin dengan bantuan oksigen molekuler dan NADPH, hasil lain dari reaksi ini adalah sitrulin.



Gambar.Reaksi pembentukan NO dan Sitrulin

Nitrit oxida (NO) dapat dengan mudah berdifusi bebas melintasi membran sel menuju ke sel yang berada didekatnya, kemudian bereaksi dengan sulfur besi dari beberapa makromolekul (akonitase, kompleks 1 dan 2 dari rantai transport electron mitokondria), dan menghambat terjadinya ribonukleotida reduktase. Pada sintesis DNA ribonuklease diubah menjadi deoksiribonukleotida, dengan demikian maka sintesa DNA terhambat dan proliferasi sel terhenti. Ini merupakan mekanisme dari fagosit untuk menghambat pertumbuhan sel tumor atau parasit intraselular.<sup>22</sup>

Di dalam darah, NO hanya bertahan 100 milidetik, dan di jaringan hanya beberapa detik karena zat ini berikatan dengan O<sub>2</sub> membentuk nitrit. Nitrit kemudian diubah menjadi nitrat dan diekskresikan dalam urin.

### 2.3.2 Fungsi nitrit oxida

Nitrit oxida (NO) mempunyai banyak manfaat bagi tubuh, salah satu yang terpenting adalah peranannya dalam sistem imun tubuh. NO bekerja sama dengan lisosom makrofag untuk membunuh patogen seperti bakteri, jamur dan virus. Tanpa disadari, NO ikut membantu melindungi tubuh dari bakteri yang masuk melalui saluran pencernaan. Flora normal yang hidup pada rongga mulut dan kerongkongan mengkonversikan nitrat dalam makanan menjadi nitrit yang akan diubah menjadi NO saat terpapar asam lambung. NO ini akan membunuh hampir seluruh kuman patogen yang tertelan bersama makanan.<sup>11</sup>

Nitrit oxida (NO) dalam hubungannya dengan aliran darah dapat menyebabkan relaksasi otot polos sehingga berfungsi sebagai regulator aliran dan tekanan darah, mencegah agregasi dan adhesi platelet. NO membantu pula transport oksigen dengan melebarkan dinding pembuluh darah sehingga mempermudah perpindahan gas dari darah ke jaringan dan sebaliknya. Proses peradangan pada pembuluh darah juga dapat dihambat dengan produksi NO oleh NOS-3 dengan cara menghalangi eksositosis dari mediator peradangan.<sup>11</sup>

Bila NO dilepaskan disekitar glomerulus ginjal, dapat menyebabkan peningkatan *Glomerulus Filtration Rate* (GFR). Sedangkan NO yang dilepaskan oleh akhiran saraf pada penis akan menyebabkan relaksasi pada pembuluh darah penis sehingga korpus kavernosum terisi oleh darah dan menghasilkan ereksi penis.<sup>9</sup> Peran NO pada reproduksi tidak hanya sampai disitu, NO yang dilepaskan oleh akrosom pada sperma dapat mengaktifkan sel telur dalam melengkapai fase miosis II dan fase lain fertilisasi.<sup>11</sup>

Manfaat lain NO pada otot polos dapat dilihat pada dinding saluran cerna, NO mempengaruhi otot polos untuk membantu gerak peristaltik pada saluran pencernaan. Bahkan NO yang menghambat kontraksi otot polos dinding uterus sangat bermanfaat bagi ibu bersalin dengan bayi prematur, sehingga dapat mempertahankan bayinya hingga cukup bulan.<sup>11</sup>

Produksi NO berlebihan dapat meningkatkan pengaktifkan enzim guanylate cyclase yang dapat menimbulkan efek negatif, antara lain ketidakaktifan enzim tertentu, induksi protein penyebab stres bahkan kerusakan DNA.<sup>11,20</sup>

## **2.4 Pengaruh NO Terhadap Sistem Imun**

*Reactive Oxygen Intermediate* (ROI) merupakan radikal superoksida, hydrogen peroksida, radikal hidroksil dan singlet oksigen. ROI sangat reaktif sehingga dapat membunuh bakteri dan menghancurkan sel – selnya. Dalam proses tersebut kebutuhan oksigen meningkat, sehingga prosesnya disebut *respiratory burst*. Bakteri yang masuk ke dalam fagosom dan menyatu dengan lisosom akan membentuk fagolisosom. Pada proses ini terjadi *respiratory burst* dan didigesti oleh enzim lisosom. Enzim lisosom bertugas mencerna fragmen sel bakteri setelah terintegrasi.

*Reactive Nitric Intermediate* (RNI) berperan pada fase awal dari aktivasi anti bakteri makrofag. Yang termasuk dalam RNI adalah NO, nitrit dan nitrat. Dengan adanya *Inducible Nitric Oxide Synthase* ( iNOS ) akan terbentuk NO dari prekursor L-arginin dari makrofag yang teraktifasi. Dengan adanya O<sub>2</sub>, iNOS yang telah berikatan dengan kofaktor *tetrahydrobiopterin* akan mengubah L-arginin menjadi sitrulin dan NO. NO inilah yang mempunyai aktifitas antimikroba.<sup>8,15,18,20</sup>

Selain reaksi diatas, sinergi ROI dan RNI dapat membentuk antimikroba yang lebih toksik. Contohnya adalah NO yang bereaksi dengan singlet oksigen akan membentuk peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>). Peroksinitrit adalah suatu oksidan yang dapat merusak lipid, protein dan bahkan DNA bakteri.

## **2.5 Hepar dan Ginjal**

### **2.5.1 Hepar**

Hepar merupakan organ yang penting untuk mempertahankan hidup dan berperan pada hampir setiap fungsi metabolisme tubuh. Hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang tinggi. Pembuangan hepar sebagian, pada

kebanyakan kasus sel hati yang mati atau sakit akan diganti dengan jaringan hati yang baru. Pemeriksaan fungsi hati merupakan tes skrining yang secara rutin dikerjakan untuk melacak penyakit hati. Pemeriksaan yang sering dikerjakan antara lain jumlah SGOT, SGPT, Gamma Glutamil Transpeptidase (GGT), alkali fosfatase, laktat dehidrogenase (LDH), dan lainnya.<sup>23</sup>

Serum transaminase merupakan sekelompok enzim dalam darah dan bekerja sebagai katalisator dalam proses pemindahan gugusan amino antara asam alfa amino dan asam alfa keto. Transaminase yang sering digunakan dalam menilai penyakit hati adalah *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT). SGOT merupakan enzim mitokondrial yang diproduksi oleh hepar, otot, jantung, dan ginjal, sehingga kenaikan SGOT saja yang tinggi mungkin berasal dari organ lain. SGPT merupakan enzim sitolitik dan terutama diproduksi oleh hepatosit pada daerah periportal asinus hepar. Kenaikan SGPT lebih spesifik untuk kerusakan parenkim hepar. Kenaikan kadar transaminase dalam darah disebabkan oleh sel-sel yang kaya akan transaminase mengalami nekrosis atau hancur.<sup>23</sup> Enzim-enzim tersebut masuk dalam peredaran darah. Nilai normal SGOT adalah 10-40 SI/dL, sedangkan SGPT adalah 5-35 SI/dL.<sup>24</sup>

### 2.5.2 Ginjal

Ginjal merupakan organ penting untuk membuang bahan-bahan sampah tubuh dari hasil pencernaan atau yang diproduksi oleh metabolisme. Ginjal melakukan fungsinya dengan menyaring plasma dan memindahkan zat dari filtrat pada kecepatan yang bervariasi, tergantung pada kebutuhan tubuh. Kemudian ginjal akan membuang zat yang tidak diinginkan dari filtrat dengan

mengekskresikannya dalam urin, sementara zat yang dibutuhkan akan dikembalikan ke dalam darah. Penting juga untuk diketahui bahwa ginjal menjalankan fungsi yang multiple, antara lain: pengaturan keseimbangan air dan elektrolit, pengaturan osmolalitas cairan tubuh, pengaturan keseimbangan asam-basa, ekskresi produk sisa metabolik dan bahan kimia asing, pengaturan tekanan arteri, sekresi hormon, dan glukoneogenesis.

Produk sisa metabolisme yang dikeluarkan oleh ginjal meliputi urea (dari metabolisme asam amino), kreatinin (dari kreatin otot), asam urat (dari asam nukleat), produk akhir pemecahan hemoglobin (seperti bilirubin), dan metabolit dari berbagai hormon. Ginjal juga membuang banyak toksin dan zat asing lainnya yang diproduksi oleh tubuh atau pencernaan, seperti pestisida, obat-obatan, dan makanan tambahan.<sup>25</sup>

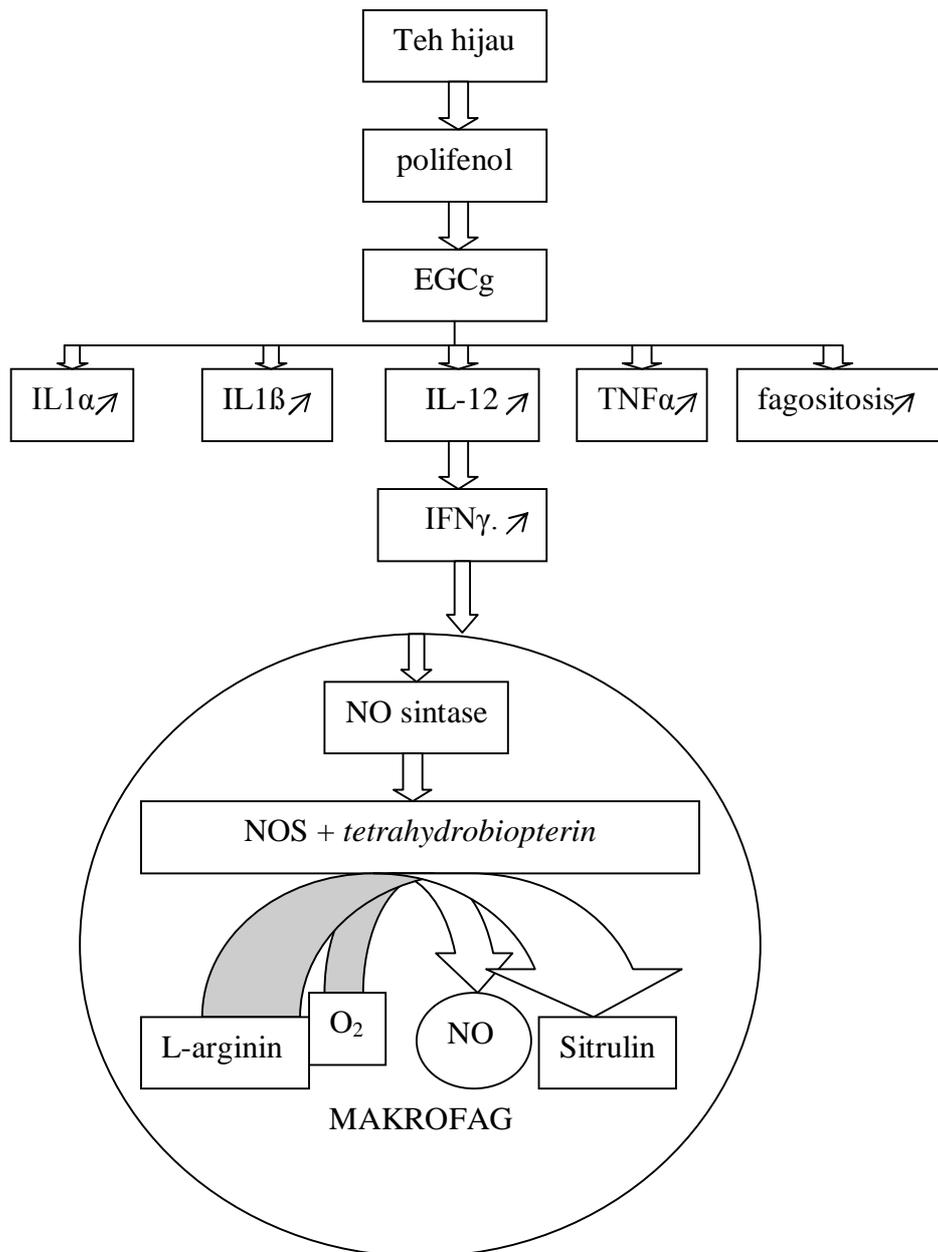
Asam amino sangat diperlukan untuk sintesis protein. Sebagian asam amino harus dipasok dari makanan sehari-hari (esensial), sebagian lagi dapat dibentuk dari senyawa melalui proses transaminasi dengan menggunakan nitrogen amino dari asam amino lain yang berlebihan. Nitrogen amino akan mengalami deaminasi dan dikeluarkan sebagai ureum, yang kemudian diangkut oleh darah ke ginjal serta diekskresikan lewat urin.<sup>26</sup> Nilai normal ureum dalam plasma adalah 8-25 mg/dl.<sup>24</sup>

Kreatinin merupakan metabolit endogen yang sangat berguna untuk menilai fungsi glomerulus. Zat ini umumnya berasal dari metabolisme otot. Dari kesemuanya diekskresikan melalui ginjal dengan proses filtrasi dari glomerulus bebas dengan sekresi tubulus yang minimal. Dalam keadaan normal (fungsi ginjal, diet, massa otot, dan metabolisme) kreatinin akan diproduksi dalam jumlah yang sama dan diekskresikan melalui urin setiap hari. Pemeriksaan konsentrasi

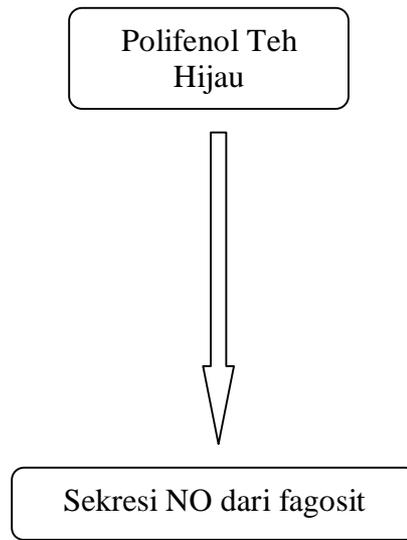
kreatinin dalam darah secara klinis berguna untuk menilai fungsi ginjal. Peningkatan kreatinin dalam darah menunjukkan penurunan fungsi ginjal.<sup>27</sup> Nilai normal kreatinin pada wanita adalah 0,5-1 mg/dl, sedangkan pria adalah 0,6-1,3 mg/dl.<sup>24</sup>

Pada keadaan normal, ginjal menyaring sekitar 180 liter cairan setiap harinya pada kapiler glomerulus dan kemudian mengubah filtrat ini menjadi urin. Penurunan jumlah nefron ginjal fungsional dapat menurunkan laju filtrasi glomerulus/ *Glomerulo Filtration Rate* (GFR) sehingga akan menyebabkan penurunan ekskresi air dan zat terlarut oleh ginjal. Produk buangan metabolisme, seperti ureum dan kreatinin, menumpuk hampir sebanding dengan jumlah nefron yang rusak karena ureum dan kreatinin sangat tergantung pada filtrasi glomerulus untuk ekskresinya dan tidak di reabsorpsi sebanyak elektrolit. Karenanya jika ada kerusakan nefron ginjal dan GFR turun, akan terjadi akumulasi ureum dan kreatinin dalam darah.<sup>25</sup>

## 2.6 Kerangka Teori



## 2.7 Kerangka Konsep



## **2.8 Hipotesis Penelitian**

Terjadi peningkatan sekresi NO oleh fagosit setelah pemberian polifenol teh hijau peroral 350 mg 2 kali sehari selama 2 dan 4 minggu.

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Ruang Lingkup Penelitian

- Ruang lingkup keilmuan : Ilmu Biokimia dan Imunologi
- Ruang lingkup tempat : Laboratorium Bioteknologi Kedokteran FK  
UNDIP dan Laboratorium Ilmu Hayati  
UGM.
- Ruang lingkup waktu : Agustus 2004 –Februari 2005.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *Quasi* eksperimental dengan rancangan *Pre and Post Test Design*. Individu sehat yang menyatakan setuju untuk berpartisipasi dalam penelitian ini akan diperiksa sekresi NO oleh fagosit sebelum perlakuan, selanjutnya akan diberi kapsul polifenol teh hijau 350 mg 2 kali sehari selama 4 minggu, kemudian akan dilakukan pengukuran kembali pada akhir minggu kedua dan keempat. Penilaian dilakukan dengan membandingkan hasil sebelum dan sesudah perlakuan.

#### 3.3 Populasi dan Sampel

##### 3.3.1 Populasi

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

##### 3.3.2 Sampel

- a. Jumlah sampel

Jumlah sampel dalam penelitian ini sebanyak 20 orang.

b. Cara pengambilan sampel

- Kriteria inklusi:

- Pemeriksaan USG hepar dan ginjal normal
- Pemeriksaan SGPT normal
- Pemeriksaan ureum dan kreatinin normal

- Kriteria eksklusi:

- Mengundurkan diri
- Tidak mengkonsumsi kapsul polifenol teh hijau secara teratur
- Sakit dalam masa penelitian.

### **3.4 Variabel Penelitian**

#### 3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian kapsul polifenol teh hijau 350 mg 2 kali sehari selama 4 minggu.

#### 3.4.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah sekresi NO oleh fagosit.

### **3.5 Alat dan Bahan**

#### 3.5.1 Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini:

1. *Disposable spuit* 10 cc.
2. *Torniquet*.
3. Tabung *ependorf*.
4. Tabung reaksi.

5. *Sentrifuge*.
6. Tabung *sentrifuge*.
7. *Micropipet*.
8. Bilik hitung.
9. *Luminair flow*.
10. Mikroskop.
11. Inkubator.
12. *microplate* ELISA 96 *well* dengan dasar rata.
- 13 *Automated microplate reader*.
14. Spektrofotometer.
15. Cuvet.

### 3.5.2 Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini:

1. Sampel darah.
2. Alkohol 70 %.
3. Kapsul polifenol teh hijau 350 mg ( 840 kapsul ).
4. Larutan PBS.
5. Larutan Ficoll.
6. Larutan  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .
7. Larutan RPMI ( *Roswell Park Memorial Institute* )
8. Reagen *Gries*.
9. Larutan standar  $\text{NaNO}_2$ .
10. Reagen NED.

### 3.6 Cara Kerja

### 3.6.1 Cara kerja pemisahan fagosit dari darah tepi

Lihat lampiran 1

### 3.6.2 Cara kerja pemeriksaan NO

Lihat lampiran 2

## 3.7 Data yang dikumpulkan

Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil pengukuran di laboratorium.

## 3.8 Definisi Operasional Variabel

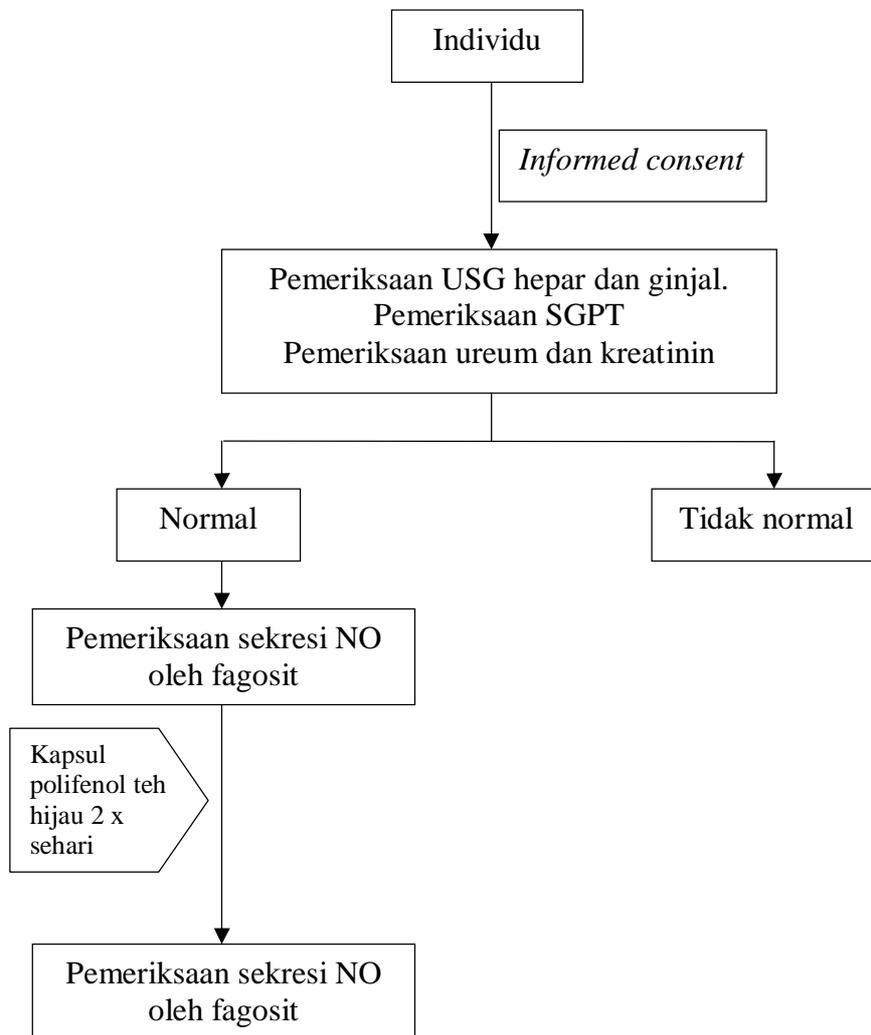
- 3.8.1 Fagosit adalah sel yang bekerja untuk menelan dan membunuh patogen, termasuk didalamnya adalah makrofag, monosit, neutrofil PMN, dan eosinofil.
- 3.8.2 Individu sehat adalah mahasiswa Fakultas Kedokteran Undip yang bersedia mengikuti penelitian ini dengan memberikan *informed consent* dan menjalani tes skrining kesehatan.
- 3.8.3 Polifenol teh hijau adalah senyawa aktif dari teh hijau yang mengandung tujuh macam bentuk *catechin* dan bermanfaat sebagai antioksidan.
- 3.8.4 Pemberian polifenol teh hijau merupakan pemberian polifenol teh hijau dalam bentuk kapsul dengan dosis 350 mg/kapsul, 2 kali sehari selama 4 minggu.
- 3.8.5 Sekresi NO oleh fagosit adalah pelepasan suatu radikal bebas oleh sel fagosit berupa Nitrit Oksida yang disintesa oleh enzim *Nitric Oxide Synthase* melalui reaksi yang kompleks dan dihitung dengan metode modifikasi Gries dari

*Green et al 1982 dan Ding et al 1988.*

### **3.9 Pengolahan dan Analisis Data**

Untuk mengetahui perbedaan sekresi NO sebelum dan sesudah perlakuan mempunyai sebaran normal atau tidak, maka dilakukan uji distribusi normalitas data ( uji *Shapiro-Wilk* ). Apabila data yang diperoleh memiliki distribusi normal maka akan dianalisis dengan uji *T-test* untuk data berpasangan ( *Paired Sample T-test* ). Jika data tersebut berdistribusi tidak normal maka akan dianalisis dengan uji statistik *Wilcoxon*. Pengolahan analisis data dengan menggunakan program SPSS for Windows Versi 12.0 dengan tingkat kemaknaan  $\alpha < 0,05$ .

### 3.10 Alur Penelitian



## DAFTAR PUSTAKA

1. Anonymous. Manfaat teh untuk kesehatan jantung. Available from: URL: <http://www.vision.net.id>
2. Anonymous. Teh hijau mencegah penyakit. 2005. Available from: URL: <http://www.pikiranrakyat.com/cetak/2005>
3. Anonymous. Beverage produced by steeping in freshly boiled water the young leaves and leaf buds of the tea plant, *camellia sinensis*. Available from: URL: <http://www.Britanica.com/tea>.
4. Khomsan A. Teh sup kimiawi sumber antioksidan. . Available from: URL: <http://www.sinarharapan.co.id>
5. Susilaningsih N, Johan A, Gunardi, Winarto. Pengaruh polifenol teh hijau terhadap aktifitas makrofag dalam membunuh bakteri. Artikel Penelitian. Semarang: FK UNDIP; 2003.
6. Kazuto M, Thomas W. Klein, Herman F, Yoshimasa Y. *Legionella pneumophila* replication in macrophages inhibited by selective immunomodulatory effects on cytokine formation by Epigallocatechin Gallate, a major form of tea catechins. Infection and Immunity 2001 June; 3947-3953.
7. Kazuto M, Thomas W. Klein, Herman F, Yoshimasa Y. Epigallocatechin gallate, a potential immunomodulatory agent of tea components, diminishes cigarette smoke condensate – induced suppression of anti-*Legionella pneumophila* activity and cytokine responses of alveolar macrophages. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 2002 July; 864-871.
8. Nohl H. Nitric oxide and related radicals. Free Radical from Basics Science to Medicine. Switzerland: Birkhauser Verlag Basel; 1993 : 38-9.
9. Roitt IM. Imunologi. Edisi 8. Jakarta: Penerbit FK UI; 2001 : 2-10.
10. Kresno SB. Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium, Edisi keempat. Jakarta: Penerbit FK UI; 2001 :3-9.

11. Anonymous. Nitric oxide. Available from: URL: <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet>
12. Fulder S. Khasiat Teh Hijau. Jakarta: Prestasi Pustaka Publisher; 2004. vii-xvii: 3-6: 22-23
13. Anonymous. Teh, temukan khasiatnya. 2004. Available from: URL: <http://www.alumni.ipb.or.id/content.php>
14. Anonymous. The health benefits of mega natural gold. Available from: URL: <http://www.polyphenolics.com/pdf/healthbenefitsofvinox.pdf>
15. Anonymous. Minum teh dan khasiatnya bagi kesehatan. 2003. Available from: URL: <http://www.sinarharapan.co.id>
16. Anonymous. Green tea catechins. 2006. Available from: URL: <http://www.vitaminherbuniversity.com/topic.asp?categoryid=4&topicid=1064>
17. Anonymous. Catechins. 2006. Available from: URL: <http://www.supplementwatch.com/suplib/supplement.asp?DocId=1071>
18. Baratawidjaya KG. Imunologi dasar, Cetakan ke tiga. Jakarta: Balai Penerbit FK UI; 1996 :16-8.
19. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and mollecular immunology. Philadelphia, WB Saunders co; 2000 : 32-349.
20. Devlin TM. Biochemistry with Clinical Correlation, 5<sup>th</sup> ed. Canada: Wiley-Liss; 2002 : 407-88.
21. Garrel C., Fontecave M. Nitric oxide : chemistry and biology. Switzerland: Birkhauser Verlag Basel;1995 : 22-8.
22. Ishimura Y, Shimada H, Suematsu M, editors. Oxygen homeostasis and its dynamics. Tokyo, Japan: Springer-Verlag; 1998 : 289-92.

23. Husadha Y. Fisiologi dan Pemeriksaan Biokimiawi Hati. In: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1996. 224-227
24. Widmann FK. Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi ke-9. Jakarta: EGC; 1992. 254-258:329
25. Guyton AC, Hall JE. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi ke-9. Jakarta: EGC; 1997. 397-398
26. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Edisi Ke-24. Jakarta: EGC; 1997. 165:757:767
27. Nasution MY, Prodjosudjadi W. Pemeriksaan Penunjang Pada Penyakit Ginjal. In: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 2. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1996. 301