

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 19	No. 2	Hal. 65-139	Surabaya Maret 2013	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	-------------	------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**Susunan Pengelola Jurnal Ilmiah Patologi Klinik Indonesia
(*Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*)**

Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia Masa Bakti 2010–2013

(surat keputusan pengurus pusat PDSPATKLIN Nomor 06/PP-PATKLIN/VIII/2011 Tanggal 29 Agustus 2011)

Pelindung:

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Ketua:

Prihatini

Wakil Ketua:

Maimun Z. Arthamin

Sekretaris:

Dian Wahyu Utami

Bendahara:

Bastiana Bermawi

Anggota:

Osman D. Sianipar

Penelaah Ahli:

Riadi Wirawan, AAG Sudewa, Rustadi Sosrosumihardjo, Rahayuningsih Dharma

Penyunting Pelaksana:

Yuli Kumalawati, Ida Parwati, FM Yudayana, Krisnowati, Tahono,
Nurhayana Sennang Andi Nanggung, Sidarti Soehita, Purwanto AP, Jusak Nugraha, Endang
Retnowati, Aryati, Maimun Z. Arthamin, Noormartany

Berlangganan:

3 kali terbit per tahun

Anggota dan anggota muda PDSPATKLIN mulai Tahun 2011 gratis setelah melunasi iuran

Bukan Anggota PDSPATKLIN: Rp 175.000,-/tahun

Uang dikirim ke alamat:

**Bastiana Bermawi dr. SpPK,
Bank Mandiri KCP SBY PDAM
No AC: 142-00-1079020-1**

Alamat Redaksi:

d/a Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Jl. Majend. Prof. Dr Moestopo 6-8 Surabaya.
Telp/Fax (031) 5042113, 085-790298772 Email: majalah.ijcp@yahoo.com

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Gambaran Klinis Sepsis dan Kadar Nitric Oxide pada Mencit yang Diimbas dengan Lipopolysaccharide (<i>Clinical Manifestation Sepsis and Nitric Oxide Level on Mice Induced by Lipopolysaccharide</i>) Sotianingsih, Soeharyo, Lisyani S, Guntur H	65-68
Air Gandarusa (<i>Justicia gendarussa</i> Burm. f.) dan Gambaran Gen Hyaluronidase Lewat Analisis PCR (<i>Gandarusa (Justicia gendarussa</i> Burm. f.) <i>Water and Expression of Hyaluronidase Gene by PCR Analysis</i>) Sri Lestari Utami, Didik P Restanto, Bambang Prajogo EW	69-75
Proteinuria dalam Strok Disertai Diabetes Melitus dan Tanpa Disertai Diabetes Melitus (<i>Proteinuria in Stroke With and Without Diabetic</i>) Misnah, Suci Aprianti, Fitriani Mangerangi, Burhanuddin Bahar	76-78
Pendekatan Stewart dalam pH Darah yang Mendasari Asidosis Metabolik (<i>The Stewart's Approach in Blood pH Underlying Metabolic Acidosis</i>) Efrida, Ida Parwati, Ike Sri Redjeki	79-87
Kuman dan Kepekaan Antimikroba di Kasus Patah Tulang Terbuka (<i>Microbes and Antimicrobial Sensitivity in Open Fracture</i>) Yanty Tandirogang, Tenri Esa, Nurhayana Sennang	88-91
Katekin Daun Teh Hijau (<i>Camelia sinensis</i>) terhadap Malondialdehyde dan Super Oxide Dismutase (<i>Katekin from Green Tea Leaves (Camellia sinensis) to Malondialdehyde and Super Oxide Dismutase</i>) Sukina B, Gwenny I.P Suhartati, Harianto N	92-97
Procalcitonin dan Interleukin-6 pada Sepsis dengan Gejala Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) (<i>Procalcitonin and Interleukin-6 in Sepsis with Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)</i>) Indranila KS, Tjahjati DM, Emma	98-104
Identifikasi Bakteri Aerob Gram Negatif dan Gram Positif Menggunakan Metode Konvensional dan Otomatik (<i>Gram Negative and Gram Positive Aerobic Bacteria Identification Using Conventional and Automatic Method</i>) Patricia M. Tauran, Irda Handayani, Nurhayana Sennang	105-111
Immature Platelet Fraction (IPF) dan Trombopoietin di Sirosis Hati (<i>Immature Platelet Fraction (IPF) and Thrombopoietin in Liver Cirrhosis</i>) Esti Rohani, Yetti Hernaningsih, Suprpto Ma'at, Ummi Maimunah	112-118
Eosinopenia dan Procalcitonin dalam Sepsis (<i>Eosinopenia and Procalcitonin in Sepsis</i>) Danny Luhulima, W. Hidayati, IGAAP Sri Rejeki, R. Permatasari	119-125

TELAAH PUSTAKA

C-X-C Receptor 4 (CXCR4) Metastasis Kanker Payudara (<i>C-X-C Receptor 4 (CXCR4) in Metastasis of Breast Cancer</i>) I Wayan Sudarsa, I Wayan Putu Sutirta Yasa	126-131
--	---------

LAPORAN KASUS

Leukemia Sel Berambut (<i>Hairy Cell Leukaemia</i>) Reini Meilani Isbach, Agus Alim Abdullah, Mansyur Arif	132-135
---	---------

INFOMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	136-139
---	---------

Ucapan terima kasih kepada penyunting Vol. 19 No. 2 Maret 2013

Krisnowati, Maimun Z. Arthamin, Rahayuningsih Dharma, Purwanto AP, Ida Parwati, AAG Sudewa,
Endang Retnowati, Jusak Nugraha, Noormartany, M. Yolanda Probahoosodo

Dewan Redaksi Majalah IJCP

KATEKIN DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) TERHADAP MALONDIALDEHYDE DAN SUPER OXIDE DISMUTASE

(Katekin from Green Tea Leaves (*Camellia sinensis*) to Malondialdehyde and Super Oxide Dismutase)

Sukina B¹, Gwenny I.P², Suhartati², Harianto N²

ABSTRACT

Recent studies have shown that Plumbum could disrupt tissue prooxidant/antioxidant balance. The green tea leaves (*Camellia sinensis*) is an antioxidant scavenger of free radicals and chelator of heavy metals. This study was designed to know and investigate the efficacy of Katekin from green tea leaves malondialdehyd (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity in erythrocytes caused by oral Pb administration in Wistar rats. Thirty adult male rats were divided into six (6) groups (each groups: 5 rats): K+ group (oral 33.75 mg/bw Katekin), K group as a normal control, K- group (oral 15.82 mg/day lead acetate), P1 group (oral 22.5 mg/bw Katekin and 15.82 mg/day lead acetate), P2 group (oral 33.75 mg/bw Katekin and 15.82 mg/day lead acetate for), and P3 group (oral 45 mg/bw/Katekin and 15.82 mg/day lead acetate) for 4 weeks. The results showed that Pb exposure induced the raised of MDA levels and decrease SOD activity in erythrocytes of rats. The administration of Katekin from green tea leaves significantly reduced MDA levels and increased SOD activity in Pb exposed erythrocytes of rats. The optimal dose of Katekin from green tea leaves as a scavenger of free radicals and chelator of heavy metals was 22.5 mg/bw/day (P1). These results indicated that the administration of Katekin from green tea leaves may have an important role in modulating oxidative stress in Pb exposed erythrocytes, but at a higher concentration of Katekin from green tea leaves showed prooxidant activity.

Key words: Katekin from green tea leaves, malondialdehyde, super oxide dismutase, acetate lead

ABSTRAK

Telitian yang sudah ada menunjukkan bahwa Plumbum dapat mengganggu keseimbangan pro-oksidan/oksidan di jaringan. Katekin daun teh hijau (*Camellia sinensis*) berperan sebagai antioksidan dan mengikat logam berat. Pada penelitian ini digunakan 30 ekor subjek penelitian tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi enam (6) kelompok (setiap kelompok terdiri dari lima (5) ekor). Kelompok K₍₊₎ (diberi air suling dan Katekin 33,75 mg/hari/oral); kelompok K sebagai pembandingan normal (diberi air suling); kelompok K₍₋₎ (diberi Pb asetat 15,82 mg/hari/oral); kelompok perlakuan P1 (diberi Pb asetat 15,82 mg/hari/oral dan Katekin 22,5 mg/hari/oral), kelompok perlakuan P2 (diberi Pb asetat 15,82 mg/hari/oral dan Katekin 33,75 mg/hari/oral selama empat/4 minggu), dan kelompok perlakuan P3 (diberi Pb asetat 15,82 mg/hari/oral dan Katekin 45 mg/hari/oral) selama empat (4) minggu. Hasil telitian menunjukkan bahwa pemberian Pb asetat dapat meningkatkan kadar malondialdehyd (MDA) dan menurunkan aktivitas (superoxide dismutase) SOD di eritrosit tikus jantan galur Wistar. Pemberian Katekin daun teh hijau memiliki manfaat dalam mengikat ion logam peralihan serta mencegah peningkatan kadar MDA dan penurunan aktivitas enzim SOD di eritrosit tikus putih jantan galur Wistar yang dipajan Pb, tetapi di kepekatan yang lebih tinggi Katekin daun teh hijau memperlihatkan aktivitas sebagai pro-oksidan.

Kata kunci: Katekin daun teh hijau, malondialdehyd, superoksida dismutase, plumbum asetat

PENDAHULUAN

Timbal (Pb) adalah jenis logam berat beracun yang banyak digunakan, sehingga tersebar secara luas di lingkungan kehidupan. Keracunan Pb, adalah salah satu masalah kesehatan lingkungan yang cukup berat di seluruh dunia, khusus bagi anak-anak dari keluarga miskin di negara berkembang, seperti Indonesia.¹

Keracunan Pb dapat menyebabkan kerusakan berbagai organ, yang mengakibatkan berbagai macam penyakit dan diduga akibat stres oksidatif. Timbal dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif dengan

cara mengimbas pembentukan senyawa oksigen reaktif [*Reactive Oxygen Species (ROS)*], menurunkan sistem pertahanan sel antioksidan, menghambat aktivitas enzim antioksidan dan atau meningkatkan kerentanan sel terhadap serangan oksidatif.^{2,3}

Radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) merupakan ROS yang paling berbahaya karena dapat menimbulkan reaksi peroksidasi lipid dan menghambat aktivitas enzim antioksidan. Hasil akhir reaksi peroksidasi lipid adalah berbagai senyawa yang bersifat toksis terhadap sel, terutama malondialdehyd (MDA). Sehingga

¹ Jurusan Gizi Fakultas Politeknik Kesehatan Kendari. E-mail: gwenny.kristanto@yahoo.com

² Departemen Biokimia Kedokteran Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga Surabaya

pengukuran kadar MDA dapat digunakan secara luas sebagai indeks dari adanya kerusakan oksidatif.³

Sel melindungi diri terhadap kerusakan oksidatif dengan sistem antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Superoksida dismutase (SOD) adalah enzim antioksidan utama di dalam sel.³

Sekitar 99% Pb dalam peredaran darah terikat di eritrosit. Pengaruh hematotoksisitas Pb adalah menghambat enzim yang berperan dalam biosintesis heme, yaitu: enzim δ -asam aminolevulinat dehidratase (δ -ALAD) dan ferokelatase. Eritrosit memiliki ketertarikan yang tinggi terhadap Pb, menyebabkan eritrosit lebih rentan terhadap kerusakan oksidatif dibandingkan dengan sel lainnya.³ Antioksidan tubuh makhluk hidup didapatkan dari endogen seperti SOD dan eksogen yang berasal dari makanan.⁴

Teh saat ini dibudidayakan di lebih dari 30 negara di seluruh dunia dan menjadi konsumsi minuman kedua setelah air, termasuk Indonesia. Teh, meliputi: teh hijau, oolong, dan teh hitam, banyak kajian *in vitro* dan *in vivo* yang menunjukkan bahwa teh memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Senyawa aktif teh adalah polifenol, terutama Katekin (flavonoid). Katekin teh memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C dan E (25 sampai 100 kali lebih kuat daripada vitamin C). Teh hijau merupakan sumber yang kaya Katekin, mengandung hingga 30% dari berat kering daun. Di samping itu Katekin juga dapat mengikat ion logam peralihan (ion ferro dan lain-lain).⁵

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui khasiat dengan mempelajari pengaruh pemberian Katekin daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap kadar MDA dan aktivitas enzim SOD di eritrosit tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipajan=Pb. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

Sumber timbal di alam dapat berupa Pb organik dan anorganik. Paparan Pb anorganik dapat diserap melalui penghirupan, oral, dan kulit. Manusia tercemari Pb melalui udara, air, debu, dan makanan.⁶

Stres oksidatif terjadi ketika hasil oksidan melebihi kemampuan pertahanan antioksidan.

Mekanisme pembentukan radikal bebas akibat paparan Pb di eritrosit yang menghasilkan ROS, adalah dengan menghambat enzim δ -ALAD dan ferokelatase.^{4,7,8}

Katekin adalah antioksidan yang baik dan diserap masuk dengan baik di pencernaan. Pencernaan berperan sangat penting dalam metabolisme dan konjugasi dengan polifenol atau flavonoid sebelum sampai ke hati.⁹ Polifenol dimetabolisme dalam usus halus dan hati, kemudian diangkut kembali ke dalam lumen usus, mencapai usus besar selanjutnya dimetabolisme oleh mikroflora usus menjadi asam fenolat. Asam fenolat ini diserap dalam usus besar, ditemukan dalam plasma dan seringkali terkonjugasi lebih lanjut dan dimetabolisme di hati.^{5,10}

Antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam ROS, meskipun dalam kepekatannya rendah. Antioksidan tubuh berasal dari: Endogen non-enzim [*glutathione* (GSH), *glutathione disulfida* (GSSG)] dan enzim: *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *Glutathione peroxidase* (GPx), dan *glutathione reductase* (GR); Eksogen dari diet. Enzim SOD adalah metaloporfirin-protein yang berfungsi antioksidan.

Timbal memudahkan pengubahan Hb menjadi metHb. Selama proses mengoksidasi Hb oleh keberadaan Pb akan dihasilkan H₂O₂ yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid membran eritrosit.¹ Timbal (Pb) dapat mengganggu keseimbangan oksidan dan antioksidan. Beberapa penelitian telah menunjukkan kemampuan antioksidan eksogen dalam meredam ROS akibat keracunan Pb. Salah satu jenis senyawa antioksidan alami adalah Katekin teh hijau.^{1,5}

METODE

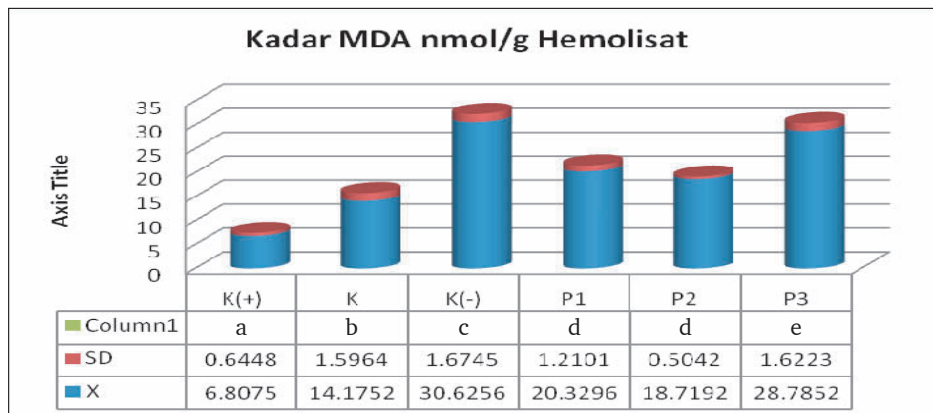
Penelitian ini adalah penelitian percobaan murni, dengan rancangan *randomized post test only control group design*.

Pemeriksaan kadar MDA dengan menggunakan TBARS Assay Kit, ZMC Catalog

Pemeriksaan kadar MDA dengan menggunakan TBARS Assay Kit ZMC Catalog #: 0801192., dan 2,5 mL untuk pemeriksaan aktivitas SOD dengan menggunakan *Superoxide Dismutase Assay Kit Catalog# 7500-100-K*.^{11,12}

Tabel 1. Dosis Pb asetat dan Katekin di kelompok pembanding dan perlakuan

Kel	Perlakuan dengan pemberian	
	Pb(CH ₃ COO) ₂ .3H ₂ O	Katekin daun teh hijau
K ₍₊₎	-	33,75 mg/kgBB/hari
K	-	-
K ₍₋₎	15,82mg/hari × 4 minggu	-
P1	15,82mg/hari × 4 minggu	22,5 mg/kgBB/hari
P2	15,82mg/hari × 4 minggu	33,75 mg/kgBB/hari
P3	15,82mg/hari × 4 minggu	45 mg/kgBB/hari



SD: Simpang baku (standar deviasi), X: kadar rerata. Huruf a, b, c, d dan e di setiap kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) bila berbeda huruf, misal: $K_{(+)}$ ^a dengan K^b , bila sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna seperti di kelompok P_1^d dan P_2^d

Gambar 1. Rerata dan simpangan baku kadar MDA eritrosit nmol/g hemolisat.

Dari hasil meneliti akan diperoleh data kadar MDA dan aktivitas enzim SOD. Analisis data dilakukan secara deskriptif dan inferensial. Analisis deskriptif dilakukan dengan menghitung nilai rerata dan simpang bakunya. Analisis inferensial dilakukan untuk mengetahui ada/tidak adanya perbedaan pengaruh perlakuan dengan menggunakan uji *Manova*. Bila terdapat perbedaan yang bermakna, dilanjutkan dengan uji LSD, untuk melihat perbedaan antara kelompok pembandingan yang masing-masing diberi perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar MDA Eritrosit

Hasil meneliti pengaruh Katekin daun teh hijau terhadap kadar MDA eritrosit tikus putih yang diberi Pb per oral, seperti Gambar 1.

Aktivitas enzim SOD

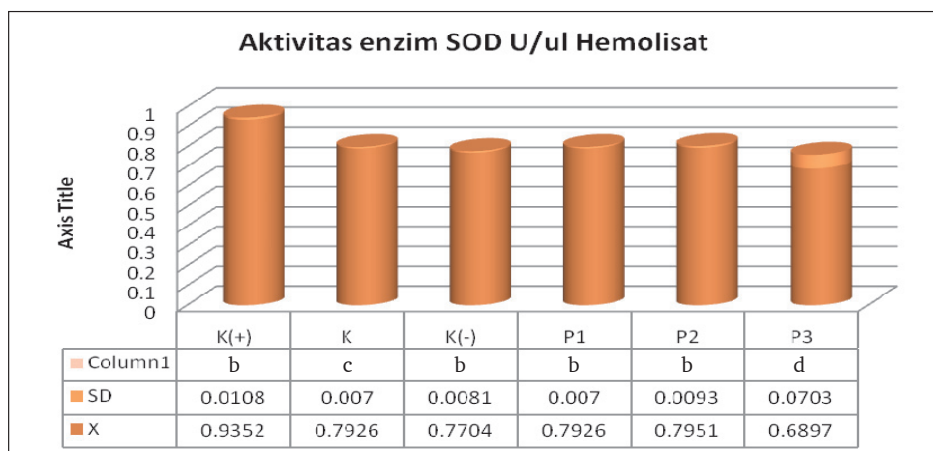
Hasil uji inferensial pengaruh Katekin daun teh hijau terhadap stres oksidatif eritrosit tikus yang diimbasi Pb

Berdasarkan kadar MDA dan aktivitas enzim SOD eritrosit yang tertera di Tabel 2 dan 3, bersebaran normal di semua kelompok ($p > 0,05$).

Di uji *Manova*, didapatkan perbedaan yang bermakna (paling sedikit 1 kelompok yang berbeda bermakna dari ke enam kelompok perlakuan) untuk kadar MDA dan aktivitas enzim SOD di setiap kelompok perlakuan.

Di Uji *Anova* yang dilakukan untuk setiap variabel, didapatkan perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan (paling sedikit terdapat 1 kelompok yang berkadar MDA berbeda bermakna, dan aktivitas enzim SOD berbeda bermakna), selanjutnya dilakukan uji LSD.

Untuk mengetahui perbedaan kadar MDA dan aktivitas enzim SOD antar kelompok, dilakukan uji LSD. Hasilnya diringkas di Tabel 4 dan Tabel 5.



Ket. SD: simpang baku (standar deviasi), X: aktivitas rerata. Huruf a, b, c, d dan e di setiap kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) apabila berbeda huruf misalnya: $K_{(+)}$ ^a dengan K^b . Bila sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna seperti di kelompok K, P_1^b dan P_2^b

Gambar 2. Rerata dan simpangan baku aktivitas enzim SOD eritrosit U/u hemolisat. Hasil meneliti pengaruh Katekin daun teh hijau terhadap aktivitas enzim SOD eritrosit tikus putih yang dipajani Pb.

Tabel 4. Hasil uji beda kadar MDA eritrosit antar kelompok perlakuan

Kel	n	Kadar MDA (nmol/g Hemolisat)		Anova one way
		Rerata	SD	
K ₍₊₎	4	6,8075 ^a	0,6448	F = 209,140 P = 0,000
K	5	14,1752 ^b	1,5964	
K ₍₋₎	5	30,6256 ^c	1,6745	
P ₁	5	20,3296 ^d	1,2101	
P ₂	5	18,7192 ^d	0,5042	
P ₃	5	28,7852 ^e	1,6223	

Sumber: Data hasil penelitian (2011)

Tabel 5. Hasil uji beda aktivitas enzim SOD eritrosit antar kelompok perlakuan

Kel	N	Aktivitas enzim SOD (U/ μ L Hemolisat)		Anova one way
		Rerata	SD	
K ₍₊₎	4	0,9352 ^a	0,0108	F = 343,214 P = 0,000
K	5	0,7926 ^b	0,0070	
K ₍₋₎	5	0,7704 ^c	0,0081	
P ₁	5	0,7926 ^b	0,0070	
P ₂	5	0,7951 ^b	0,0093	
P ₃	5	0,6897 ^d	0,0703	

Sumber: Data hasil penelitian (2011)

Penyarian daun teh hijau

Maserasi 750 g serbuk daun teh hijau menggunakan pelarut air (H₂O) panas (suhu 65 °C), menghasilkan sari air kental seberat 256,5 g (34,2% dari berat awal). Maserasi dengan air panas dalam penelitian ini dimaksudkan untuk meningkatkan ketepatan penyarian.^{13,14}

Pengaruh Katekin daun teh hijau terhadap stres oksidatif eritrosit tikus putih galur Wistar yang diinduksi Pb

Pada penelitian ini, setelah pemberian Pb asetat selama empat (4) minggu di kelompok pembanding negatif (K₍₋₎), kadar MDA eritrosit secara bermakna meningkat ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok pembanding normal (K) yang tidak menerima perlakuan.

Beberapa telitian terdahulu telah ditemukan kemampuan Pb untuk mengimbas stres oksidatif, dan keadaan itu membuktikan bahwa peran stres oksidatif mendasari patofisiologi keracunan Pb. Di beberapa telitian *in vitro* ditemukan peningkatan hasil ROS setelah pemberian Pb.^{5,15} Kajian *in vivo* juga menunjukkan bahwa pajanan Pb dapat menyebabkan peningkatan hasil ROS dan perubahan sistem pertahanan antioksidan di hewan dan pekerja.^{7,16,17} Tikus yang diberi Pb asetat 2 ppm *ad libitum* selama 5 minggu, secara bermakna meningkatkan kadar MDA di limfosit dan hati tikus.¹⁸ Dalam kultur sel

endotel aorta, Pb secara bermakna meningkatkan pembentukan •OH dan peroksidasi lipid.¹⁹ Di pekerja yang terpajan Pb, kadar MDA eritrosit meningkat secara bermakna, dan memiliki kenasaban statistik dengan kadar Pb darah dan petanda klinis keracunan Pb.⁷

Kelompok enzim antioksidan SOD merupakan enzim pertahanan antioksidan utama terhadap toksisitas oksigen. Enzim ini bertindak untuk mengubah •O₂⁻ menjadi O₂ dan H₂O₂ (20). Pada penelitian ini, pemberian Pb asetat di kelompok pembanding negatif (K₍₋₎) selama empat (4) minggu, dapat menurunkan aktivitas enzim SOD di eritrosit tikus secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok pembanding normal (K) yang tidak menerima perlakuan.

Penelitian di anak tikus yang mendapatkan 600 ppm Pb asetat dalam air minum pada waktu hamil (gravid) dan menyusui (laktasi) menunjukkan penurunan aktivitas enzim SOD secara bermakna di *hipothalamus*, *corpora quadrigemina* dan korpus striatum ($p < 0,05$).²¹ Di pekerja perusahaan Baterai India Barat, aktivitas enzim SOD eritrosit menurun secara bermakna dibandingkan dengan kelompok pembanding ($p < 0,05$), dan memiliki kenasaban statistik dengan kadar Pb dalam darah dan petanda klinis keracunan Pb.²²

Timbal dapat mengimbas pembentukan ROS (seperti O₂⁻), mengurangi sistem pertahanan antioksidan sel, dan menghambat aktivitas enzim antioksidan.⁸

Mekanisme pembentukan ion •O₂⁻ yang diimbas Pb adalah melalui interaksinya dalam jalur biosintesis heme. Timbal memiliki ketertarikan yang tinggi terhadap gugus SH, menghambat aktivitas enzim δ -ALAD dan menyebabkan peningkatan substrat δ -ALA yang dapat dengan cepat dioksidasi membentuk ROS, seperti: anion superoksida (•O₂⁻).¹⁸ Pada penelitian ini penurunan aktivitas enzim SOD dalam kelompok pembanding negatif (K₍₋₎) dibandingkan dengan kelompok pembanding normal (K) yang tidak menerima perlakuan menunjukkan hasil anion •O₂⁻ yang besar, sehingga memerlukan enzim SOD untuk membentuk H₂O dan O₂, menyebabkan penurunan aktivitas enzim SOD.²³ H₂O₂ dapat menghambat aktivitas SOD dengan mengurangi Cu²⁺ menjadi Cu⁺ pada enzim Cu,Zn-SOD.²⁰

Pengaruh Katekin daun teh hijau terhadap kadar MDA dan aktivitas enzim SOD

Kajian terbaru menunjukkan bahwa pemberian antioksidan berperan penting pada penanganan stres oksidatif yang ditimbulkan oleh keracunan Pb.⁵ Penelitian di tikus yang dipajan Pb dengan diberi sari Katekin menunjukkan ada peningkatan daya hidup sel

dan aktivitas antioksidan di sel hati secara bermakna, bila dibandingkan dengan tikus yang hanya dipajan Pb.²⁴

Dalam daun teh hijau terdapat senyawa Katekin sebesar 91,23%, yang merupakan penangkal ROS dan dapat membentuk kelat dengan logam.^{5,26} Ciri ini membuat Katekin daun teh hijau menjadi bahan yang ideal untuk pengobatan keracunan Pb.¹³

Pada penelitian ini (hasil uji LSD) menunjukkan bahwa di ($K_{(-)}$), yang dipajan Pb terjadi peningkatan kadar MDA dan penurunan aktivitas enzim SOD eritrosit secara bermakna ($p < 0,05$), dan pemberian Katekin daun teh hijau mampu melindungi sel eritrosit terhadap peroksidasi lipid dan mencegah penurunan aktivitas enzim SOD eritrosit ($p < 0,05$).

Pada penelitian ini pemberian Katekin daun teh hijau dosis 33,75 mg/kgBB/hari di kelompok pembanding positif ($K_{(+)}$) secara bermakna ($P < 0,05$) menurunkan kadar MDA eritrosit dibandingkan dengan kelompok pembanding normal (K) yang tidak menerima perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Katekin daun teh hijau mampu melindungi membran eritrosit dari kerusakan akibat serangan ROS. Kajian *in vivo* yang dilakukan oleh Yokozawa, *et al.*²¹ menemukan bahwa pemberian polifenol teh hijau 2,5% tepatguna menghambat proses memperoksidasi lipid di tikus Wistar.

Pada penelitian ini, Katekin daun teh hijau diberikan bersamaan dengan Pb sarannya untuk mengetahui kemampuannya dalam menangkal ROS yang ditimbulkan akibat imbasan Pb. Di kelompok perlakuan P1 (diberi Pb dan Katekin dosis 22,5 mg/kgBB/hari), didapatkan kadar MDA eritrosit menurun secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok pembanding negatif ($K_{(-)}$) (hanya diberi Pb), hal ini menunjukkan pengaruh pencegahan terhadap proses memperoksidasi lipid di membran eritrosit.

Katekin teh hijau menunjukkan pengaruh penghambatan terhadap peroksidasi lipid di sel HepG2 akibat imbasan Pb. Peroksidasi lipid ditentukan dengan mengukur jumlah *Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)* yang terbentuk (setara dengan kadar MDA).⁵

Peningkatan dosis Katekin daun teh hijau di kelompok perlakuan P2 (diberi Pb dan Katekin daun teh hijau dosis 33,75 mg/kgBB/hari) tidak dapat menurunkan kadar MDA eritrosit ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1 (diberi Pb dan Katekin daun teh hijau dosis 22,5 mg/kgBB/hari). Hal ini menunjukkan peningkatan dosis Katekin daun teh hijau pada perlakuan P2, tidak dapat meningkatkan peran Katekin dalam mencegah membran peroksidasi lipid terjadi akibat imbasan Pb.

Sebaliknya di kelompok perlakuan P3 [diberi Pb dan diberi Katekin daun teh hijau dosis 45 mg/kgBB/hari] secara bermakna meningkatkan kadar MDA dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1 (diberi Pb dan Katekin daun teh hijau dosis 22,5 mg/kgBB/hari) dan P2 (diberi Pb dan Katekin daun teh hijau dosis 33,75 mg/kgBB/hari), yang menunjukkan bahwa perlakuan pemberian Katekin daun teh hijau dosis 45 mg/kgBB/hari (dosis tinggi) menunjukkan aktivitas pro-oksidan.^{9,21}

Terdapat tiga respons sel yang berbeda dari pajanan polifenol, yaitu: Pajanan ringan menyebabkan stres oksidatif juga ringan dan mengganggu sistem pertahanan antioksidan sel; Pajanan menengah sampai yang tinggi mengganggu sistem pertahanan antioksidan yang mengimbas kematian sel melalui apoptosis; Pajanan yang sangat tinggi, dapat dengan cepat mengganggu sistem pertahanan antioksidan sel dan menyebabkan kerusakan oksidatif, serta menyebabkan kematian sel akibat nekrosis.²¹

Kajian *in vitro* oleh Weisburg,⁹ dengan memberikan Katekin teh hijau kepekatan tinggi di sel normal dan sel ganas menunjukkan ada aktivitas pro-oksidan, dengan mekanisme berikut ini:⁹ Pembentukan H_2O_2 , kadar H_2O_2 yang dihasilkan oleh Katekin teh hijau lebih besar dibandingkan dengan teh hitam. Jumlah H_2O_2 yang dihasilkan oleh sel kanker lebih besar dibandingkan dengan sel normal. H_2O_2 dapat menghambat aktivitas SOD dengan mengurangi Cu^{2+} menjadi Cu^+ di enzim Cu,Zn-SOD. Ion Cu^+ dapat memicu pembentukan $\bullet OH$, melalui reaksi *Haber-Weiss*.²⁰; pengurangan $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$. Ion Fe^{2+} memicu terjadinya reaksi *Fenton* ketika bertemu dengan H_2O_2 dan membentuk $\bullet OH$; mengimbas peroksidasi lipid dengan keberadaan Fe^{2+} .

Pada penelitian ini pemberian Katekin daun teh hijau dosis 33,75 mg/kgBB/hari di kelompok pembanding positif ($K_{(+)}$) secara bermakna ($P < 0,05$) meningkatkan aktivitas enzim eritrosit SOD dibandingkan dengan kelompok pembanding normal (K). Hal ini menunjukkan bahwa Katekin daun teh hijau mampu melindungi sistem pertahanan sel antioksidan terhadap serangan $O_2^{\bullet -}$.

Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa pemberian Katekin teh hijau 10 μM selama dua (2) hari di sel PC-12 secara bermakna meningkatkan aktivitas enzim Cu,Zn-SOD.²⁵ Kajian *in vivo* menunjukkan bahwa pemberian sari teh hijau 3 g/L secara *ad libitum* selama lima (5) minggu (seminggu tiga/3 kali) secara bermakna meningkatkan aktivitas enzim Cu,Zn-SOD di hati dan serum tikus.^{20,26} Pemberian sari teh hijau selama delapan (8) minggu secara *ad libitum* mampu meningkatkan aktivitas enzim SOD hati tikus akibat imbasan Pb.²⁴

Berdasarkan pembahasan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa Katekin daun teh hijau mampu mempengaruhi perlindungan terhadap tolok ukur stres oksidatif yang ditimbulkan akibat imbasan Pb di sel eritrosit tikus putih galur Wistar, dengan dosis optimum 22,5 mg/kgBB. Dalam kepekatan yang tinggi (dosis 45 mg/kgBB/hari). Katekin daun teh hijau menunjukkan aktivitas pro-oksidan. Hasil hitungan, dosis daun teh hijau yang telah diubah (dari tikus ke manusia), untuk dosis optimum sebagai antioksidan adalah 0,9492 g/hari dan untuk pro-oksidan adalah 1,8984 g/hari. Dosis optimum dan untuk pro-oksidan daun teh hijau sesuai dengan perhitungan tersebut kurang relevan, karena cara menyajikan teh dengan hanya dicelup kurang sempurna untuk mengangkat senyawa polifenol yang ada di dalam daun teh hijau.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian di atas didapatkan bahwa pada pemberian Katekin daun teh hijau (*Camelia sinensis*) dapat menurunkan kadar MDA dan dapat meningkatkan aktivitas enzim eritrosit SOD tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipajan Pb dosis 15,82 mg/hari, dengan dosis terbaik 22,5 mg/kgBB/hari. Sebaliknya pemberian Katekin daun teh hijau dosis 45 mg/kgBB/hari dapat menurunkan aktivitas enzim eritrosit SOD tikus putih galur Wistar yang dipajan Pb dosis 15,82 mg/hari, tetapi di kepekatan Katekin daun teh hijau tinggi memperlihatkan aktivitas sebagai pro-oksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggarini. Toxicological profile for lead us department of health and human services. USA, Atlanta Georgia, 2007; 102–225.
- Mishra KP, Chauhan UK, Naik S. Effect of lead exposure on serum immunoglobulins and reactive nitrogen and oxygen intermediate. *Human & Experimental Toxicology* 2006; 25: 661–5.
- Patrick L. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative Medicine Review* 2006; 11 (2): 2–22
- Suryohudoyo P. Kapita selekta: ilmu kedokteran molekuler, cetakan pertama. Surabaya, CV Sagung Seto, 2000; 31–47.
- Chen L, Yang X, Jiao H, Zhao B. Tea catechins protect against lead-induced ROS formation mitochondrial dysfunction and calcium dysregulation in pc12 Cells. *Chem Res Toxicol* 2002; 16: 1155–61.
- ATSDR. Heavy metals (Cd Cu Pb and Zn) concentrations in telescopium telescopium from Dumai coastal waters. *Indonesia Pertanian Journal Trop Agric Sci* 28 2005; (1): 33–9.
- Gurer-Orhan H, Sabir HU, Ozgunes H. Correlation between clinical indicator of lead poisoning and oxidative stress parameters in controls and lead exposed workers. *Toxicology* 2004; 195:147–54.
- Ahmed M, Siddiqui MKJ Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *Clinica Chimica Acta*. 2007; 383: 57–64
- Weisburg JH, Weissman DB, Sedaghat T, and Babich H. In vitro cytotoxicity of epigallocatechin gallate and tea extracts to cancerous and normal cells from the human oral cavity. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* ISSN 1742-7835. 2004; 95: 191–200.
- Spencer JPE. Metabolism of tea flavonoids in the gastrointestinal tract. *J Nutr* 2003; 133: 3255S-61S.
- Superoxide Dismutase Assay Kit. Reagent kit for the analysis of superoxide dismutase in cell extracts. Catalog# 7500-100-K. Trevigen. 2010; 1–8.
- TBARS Assay Kit, Thiobarbituric acid reactive substances. ZMC Catalog #: 0801192 ZeptoMetrix Corporation. 2004; 1–3.
- Hara Y, Green Tea: health benefits and applications. New York, Marcel Dekker, 2001; 240–252.
- Voung QV, Golding JB, Nguyen M, Roach PD, 2010. Extraction and isolation of catechins from tea. *J Sep Sci* 33: 3415–3428.
- Aykin-Burns N, Franklin EA, Ercal N. Effects of N-acetylcysteine on lead-exposed PC-12 cells. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*. 2005; 49: 119–23.
- Bolin CM, Basha R, Cox D, Zawia NH, Maloney B, Lahiri DK, and Cardozo-Pelaez F. Exposure to lead and the developmental origin of oxidative DNA damage in the aging brain. *The FASEB Journal* 2006; 1052–65.
- Xu J, Lian L-J, Wu C, Wang X-f, Fu W-y, Xu L-h. Lead induces oxidative stress DNA damage and alteration of p53 Bax and Bcl-2 expressions in mice. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46: 1488–94.
- Ercal N, Gurrer-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Medical chemistry* 2001; 1: 529–39.
- Ding Y, Gonick HC, Vaziri ND. Lead promotes hydroxyl radical generation and lipid peroxidation in cultured aortic endothelial cells. *Am J Hypertens* 2001; 13: 552–5.
- Zelko I, Mariani TJ, and Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine* vol. 2002; 33 (3): 337–349.
- Babich H, Schuck AG, Weisburg JH, and Zuckerbraun HL. Review article research strategies in the study of the pro-oxidant nature of polyphenol nutraceuticals. *Journal of Toxicology* volume 2011. Article ID 467305 2011; 12 pages doi:10.1155/2011./467305.
- Meyer PA, McGeehin MA, Falk H. A global approach to childhood lead poisoning prevention. *International Journal Hygiene Environmental Health* 2003; 206: 363–9.
- Scott MD, Eaton JW, Kuypers FA, Chiu DT-Y, and Lubin BH, 2011. Enhancement of Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity: Effects on Cellular Oxidant Defense. *American Society of Hematology*, 1989; 74: 2542–49.
- Mehana EE, Raheim A, Meki MA, Fazili KM. Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology ETP-50542*. 2010; 113–9
- Chow J-M, Liu J-C, Chen Y-J, Hsieh M-H, Kao P-F, Cheng J-J, Chan P. The effects of catechin on superoxide dismutase activity and its gene expression in pheochromocytoma cells. *Chinese Medical Journal (Taipei)* 2002; 65: 138–14.
- Flora SJS, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress and its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res* 2008; 128: 501–23.