

Pemberian *Epigallocatechin gallate (EGCG)* Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina

Giving *Epigallocatechin gallate (EGCG)* Toward the Expression of Estrogen Receptor at Female White Mouse (*Rattus norvegicus*)

¹Donny Susanto, ²Sri Pantja Madyawati, ²Imam Mustofa

¹Mahasiswa Program Magister Ilmu Biologi Reproduksi Universitas Airlangga

²Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Kampus C Unair, Jalan Mulyorejo, Surabaya-60115.

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993015

Email : Donny_s14@yahoo.com

Abstract

Epigallocatechin gallate (EGCG) as an antioxidant also affect the process of oocyte maturation folikulogenesis and, in addition influenced by hormonal factors are also known of the role of growth factor. Gonadotropins FSH and LH hormones which have a great influence to induce oocyte maturation. Folicle stimulating hormone (FSH) have receptors on granulose cells in the follicles that serves to stimulate follicle growth. Luteinizing Hormone (LH) secreted by the glands adenohipofisis and have receptors on theca interna cells that can affect steroidogenesis, luteolisis, ovulation, and estrus cycle regulation.

This research aims to identify the expression of estrogen receptor as an indicator of estrogen receptor binding white rats (*Rattus norvegicus*) female is being exposed *Epigallocatechin gallate (EGCG)* with immunohistokimia techniques and cell number folicle due to exposure to *Epigallocatechin gallate (EGCG)*.

Estrogen receptor expression results showed that doses effect on estrogen receptor expression between the control and treatment. The results of the study at a dose of 12.15mg/100gram show significant differences when compared with a dose of 4.05mg/100gram, 8.1mg/100gram and control stromal cells. Dose effect on stromal cells.

Keywords: *Epigallocatechin gallate (EGCG)*, estrogen receptor expression, cellstroma.

Pendahuluan

Tumbuhan telah lama diketahui merupakan sumber keanekaragaman hayati yang sangat penting dalam upaya mempertahankan kesehatan masyarakat. Menurut badan kesehatan dunia (WHO), 80% penduduk dunia masih menggantungkan hidup sehat pada penggunaan obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan 25% dari obat-obat modern yang beredar di dunia berasal dari bahan aktif yang diisolasi dan dikembangkan dari tumbuhan sampai saat ini(Fulder, 2004). Penggunaan bahan bioaktif dari isolasi bahan alam terus dikembangkan sampai saat ini karena sifatnya yang bisa diperbaharui, mudah diabsorbsi dan dapat disekresikan oleh tubuh, sedangkan bahan sintetis dapat menjadi residu yang berbahaya bagi tubuh (Fulder, 2004)

Tumbuhan mempunyai potensi dalam pengembangan obat herbal yang menghasilkan senyawa metabolit sekunderdengan struktur molekul dan aktivitas biologi

yang beraneka ragam. Beberapa senyawa yang telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antikanker, antara lain golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid, santon dan kumarin. Teh Hijau yang mengandung *Epigallocatechin gallate* telah lama dikenal sebagai minuman kesehatan sejak dahulu, namun manfaat medis mulai dikenal sejak 20 tahun terakhir ini. Banyak bukti ilmiah yang terus berkembang tentang khasiat teh untuk pengobatan. Secara khusus, komponen spesifik dari teh hijau telah menunjukkan aktivitas yang signifikan sebagai antioksidan dan antikanker, pada penelitian yang menggunakan hewan percobaan (Balentine, 1997). Teh Hijau juga dilaporkan dapat melindungi dari zat kimia yang menginduksi tumor.

Manfaat utama teh berhubungan dengan arterosklerosis, hipertensi, penyakit infeksi, respon imun dan usia panjang yang secara umum disebabkan oleh aktivitas antioksidan dari teh (Rundle *et al.*, 2000).

Studi sebelumnya pada hewan percobaan dan di laboratorium menemukan bahwa kandungan teh hijau yaitu antioksidan yang disebut katekin mengaktifkan enzim-enzim *Glutation S-Transferase* (GST). Konsentrat ekstrak teh hijau dapat bermanfaat terhadap kekurangan enzim detoksifikasi dan tidak membahayakan bagi mereka yang cukup enzim detoksifikasi (Cao and Cao, 1999).

Penggunaan herbal dapat memperkuat tubuh dan mengobati penyakit secara alami, namun perlu diingat bahwa herbal mengandung berbagai zat aktif yang dapat memicu efek samping dan dapat berinteraksi dengan zat-zat lainnya seperti dari herbal lain, suplemen, obat-obatan, dan lain sebagainya. Dengan demikian konsumsi herbal harus dilakukan dengan hati-hati, dalam pengawasan praktisi yang memiliki pengetahuan dalam bidang botani kesehatan (Chacko *et al.*, 2010).

Teh hijau banyak mengandung polifenol dan derivat flavan atau secara umum juga disebut derivat katekin. Di antaranya adalah (+)-katekin (C), (+)-katekin-3-O-galat (CG), (+)-galokatekin (GC), (+)-galokatekin-3-O-galat (GCG), (-)-epikatekin (EC), (-)-epikatekin-3-O-galat (ECG), (-)-epigalokatekin (EGC), dan (-)-epigalokatekin-3-O-galat (EGCG) (Chung, 1993). EGCG (diyakini) merupakan komponen aktif teh hijau yang bermanfaat sebagai antihipertensi, antioksidan, antikarsinogenesis, melindungi kulit dari sinar UV, antikanker, dan lain-lain. Disamping manfaat tersebut, ternyata zat aktif teh hijau dapat menyebabkan gangguan reproduksi pada hewan jantan dan hewan betina, (Fulder, 2004).

Pada hewan jantan, zat aktif *Epigallocatechin gallate* (EGCG) dalam teh hijau menghambat aktivitas steroidogenesis. *Epigallocatechin gallate* (EGCG) menurunkan berat testis, kadar luteinizing hormon (LH) dan testosteron. Pemberian EGCG juga diketahui mampu menurunkan kadar testosteron hingga 70% pada tikus jantan dan menurunkan 34% kadar estradiol-17 β pada tikus betina. *Epigallocatechin gallate* (EGCG) pada hewan jantan maupun hewan betina dapat menurunkan kadar LH dalam serum dan menghambat enzim aromatase (Chacko *et al.*, 2010). Kolesterol merupakan bahan dasar untuk sintesis sejumlah hormon steroid. Pada hewan betina, kolesterol dipasok melalui pembuluh darah di bagian medulla ovarium. Kolesterol difusi ke sel theca dan sel granulosa untuk mengalami steroidogenesis dan aromatisasi.

Pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCG) sebagai antioksidan juga mempengaruhi proses folikulogenesis dan maturasi oosit, selain dipengaruhi oleh faktor hormonal dan peran *growth factor*. *Gonadotropin Hormone* yaitu FSH dan LH memiliki pengaruh yang sangat besar untuk merangsang maturasi oosit. *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) mempunyai reseptor pada sel granulosa di dalam folikel yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan folikel. *Luteinizing Hormone* (LH) disekresi oleh

kelenjar *adenohipofisis* dan memiliki reseptor pada sel teka interna yang dapat mempengaruhi *steroidogenesis*, *luteotropic*, *ovulasi*, dan pengaturan siklus birahi (Squaries, 2003). Pemberian *epigallocatechin gallate* (EGCG) berpengaruh terhadap ekspresi hormon estrogen.

Materi dan Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan asumsi semua sampel homogen dan memiliki karakteristik sama. Pengukuran awal dilakukan pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina dengan melakukan vagina smear, dimaksudkan semua sampel sebelum diberikan perlakuan dalam kondisi estrus. Sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) dengan rincian perlakuan sebagai berikut ini : digunakan sebanyak 6 ekor tikus putih sebagai kelompok kontrol (K) diberi (*Aquadest*), 8 ekor tikus putih sebagai kelompok perlakuan (P1) diberi *Epigallocatechin gallate* (EGCG) dengan dosis sebesar 4,05 mg / 100 g BB, 8 ekor tikus putih sebagai kelompok perlakuan (P2) diberi *Epigallocatechin gallate* (EGCG) dengan dosis sebesar 8,1 mg / g BB dan 8 ekor tikus putih sebagai kelompok perlakuan (P3) diberi *Epigallocatechin gallate* (EGCG) dengan dosis sebesar 12,15 mg / 100 g BB selama 7 hari.

Pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCG)

Epigallocatechin gallate (EGCG) merupakan antioksidan yang dapat diperoleh dari ekstrak teh hijau (*Camelia sinensis*). Pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCG) secara per oral pada hari ke 1 hari sampai hari ke 7 dan setelah itu hewan coba dimasukkan kandang.

Pembedahan Hewan Coba dan Pengambilan Sampel

Pembedahan dimulai dengan mengorbankan hewan coba dengan cara dislokasi os cervicalis. Desinfeksi dengan alkohol 70% kemudian dilakukan pembedahan dengan cepat untuk mengambil uterus. Pembedahan dimulai dari vagina menuju ke arah perut menggunakan gunting kecil. Dicari ovarium untuk dilakukan fiksasi yang selanjutnya akan diperiksa dengan menggunakan metode immunohistokimia.

Identifikasi Reseptor Estrogen dengan Metode Immunohistokimia

Pewarnaan immunohistokimia untuk menentukan ekspresi reseptor estrogen pada ovarium tikus putih dengan cara:

Preparat ovarium yang sudah difiksasi pada obyek glass, selanjutnya diproses mengikuti prosedur pewarnaan immunohistokimia dengan dicoating dengan antibodi poliklonal estrogen.

Hasil dan Pembahasan

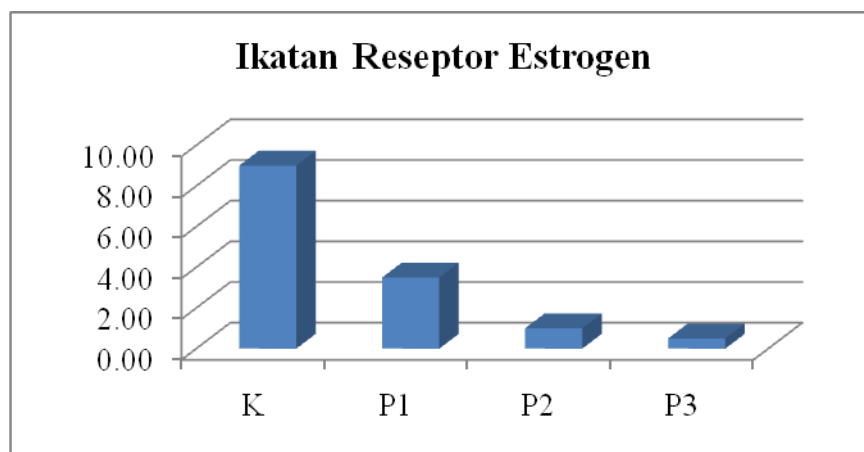
Dari hasil penelitian pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCG) menunjukkan penurunan ekspresi reseptor estrogen antara kelompok kontrol dan perlakuan. Pada kelompok P2 pemberian *Epigallocatechin gallate* yaitu 8,1 mg / g BB dan P3 12,15 mg/g BB tidak menunjukkan perbedaan diantara kedua kelompok tersebut, tetapi berbeda nyata dengan kelompok P1 yaitu pemberian *Epigallocatechin gallate* dosis 4,05 mg / g BB.

Rerata dan simpangan baku pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap ekspresi reseptor estrogen pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

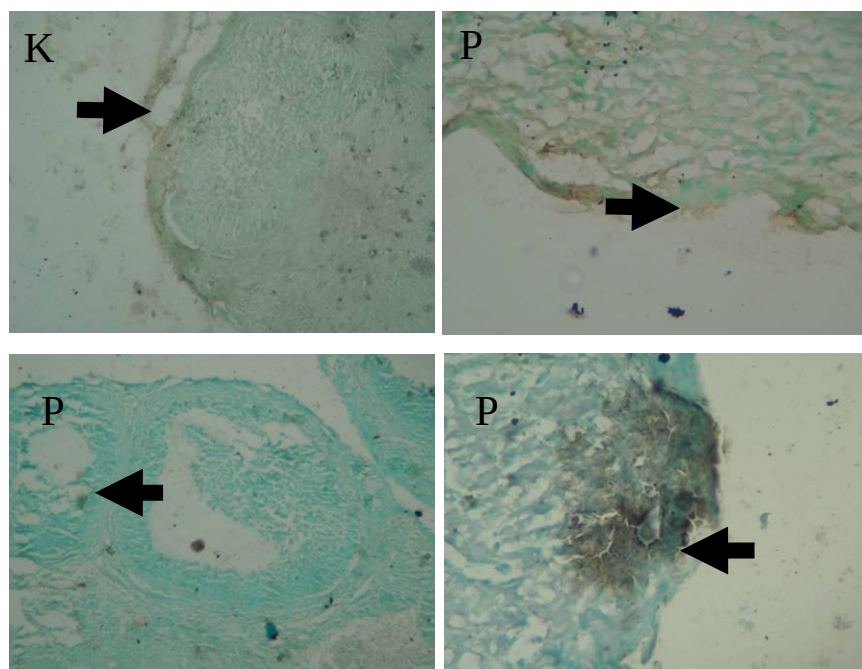
Tabel 1. Rerata ekspresi reseptor estrogen pada ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCG).

Kelompok	Indek Reseptor Estrogen (IRS) ($\bar{x} \pm SD$)
K	9,00 ^a ±1,89
P1	3,50 ^b ±1,22
P2	1,00 ^c ±0,00
P3	0,50 ^c ±0,54

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$).



Gambar 1. Histogram reseptor estrogen hasil penelitian pemberian EGCG pada ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina



Gambar 2. Gambaran ekspresi reseptor estrogen kelompok kontrol dan kelompok tikus putih setelah pemberian *Epigallocatechin Gallate* (EGCG). (Pewarnaan immunohistokimia ; pembesaran 100x; Olympus BX-50. Pentax optio 230; Camera Digital 2.0 megapixel).

Hasil pemeriksaan Immunohistokimia pada tikus putih betina yang yang diberi zat aktif teh hijau yang mengandung *Epigallocatechin galate (EGCG)* mempengaruhi penurunan ikatan reseptor hormon estrogen pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina. Secara umum dapat dilihat bahwa tiga perlakuan memberikan efek yang berbeda terhadap ikatan reseptor hormon estrogen. Pada kelompok kontrol terdapat jumlah ikatan reseptor estrogen berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok perlakuan, sedangkan antar kelompok perlakuan terutama pada dosis *Epigallocatechin galate (EGCG)* 8,1 mg/g BB dan 12,15 mg/g BB tidak terdapat perbedaan. Makin tinggi dosis *Epigallocatechin galate (EGCG)* yang diberikan makin rendah ekspresi reseptor estrogen.

Hal ini disebabkan tidak adanya prekursor kolesterol sebagai pembentuk hormon estrogen untuk pertumbuhan folikulogenesis. Penurunan ekspresi reseptor estrogen ditunjukkan dengan peningkatan pemberian zat aktif *Epigallocatechin galate (EGCG)* kemungkinan disebabkan gangguan pada aktivitas steroidogenesis. Dari beberapa hasil penelitian dijelaskan bahwa *Epigallocatechin galate (EGCG)* pada hewan jantan maupun pada hewan betina dapat menurunkan kadar LH dalam serum dan menghambat enzim aromatase (Figueiroa, 2000). Kolesterol merupakan bahan dasar untuk sintesis sejumlah hormon steroid. Pada hewan betina, kolesterol dipasok melalui pembuluh darah di bagian medulla ovarium dan berperan untuk proses steroidogenesis dan aromatisasi (Ismudiono dkk, 2010).

Kesimpulan

Pemberian *Epigallocatechin galate (EGCG)* dapat menurunkan jumlah ekspresi reseptor estrogen pada tikus betina.

Daftar Pustaka

- Balentine D. 1997. Tea and Health. Rev Food Sci Nutr. 37: 691-692.
- Cao Y and R Cao. 1999. Angiogenesis inhibited by drinking tea. Nature. 398(6726): 38.
- Chacko, S., P Thambi., R Kuttan., I Nishigaki,. 2010. Beneficial effects of green tea: A literature review. Chinese Medicine. 5: 13.
- Chung S, 1993. Teh Hijau dan Zat Kanker. Laboratorium Riset Kanker, Universitas New Jersey, USA (J Natl Cancer Inst).
- Figueiroa, M.S., S.B. Juliany, C. Viera, D.S. Leite, R.C.O.A Filho, F. Ferreira, P.S. Gouveia, D.P Udrisar and M.I Wanderley. 2009. Green teapolyphenols inhibits testosterone production in rat leydig cells. Asian J. of Andrology. 11 : 362-370.
- Fulder, S. 2004. Khasiat teh hijau. Prestasi Pustaka Jakarta. Jakarta. 3 -6, 22 - 23
- Ismudiono, P. Srianto, H. Anwar, S.P. Madyawati, A. Samik dan E. Safitri, 2010. Fisiologi Reproduksi pada ternak. Airlangga university Press. Surabaya.

Rundle A., D. Tang., H. Hibshoosh., A. Estabrook., F. Schnabel., W. Cao., S. Grumet and FP Perera, 2000. *Carcinogenesis* 2(7): 1281-1289.

Squaries E.J. 2003. *Applied Animal Endocrinology*. Cromwell Press. Trowbridge.UK.