

# **Penghambatan Peningkatan Kadar Kolesterol Pada Diet Tinggi Lemak Oleh Epigallocatechin Gallate (EGCG) Teh Hijau Klon Gmb4**

**Herin Mawarti<sup>1</sup> dan Retty Ratnawati<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Prodi S1 Ilmu Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan UNIPDU Jombang

<sup>2</sup>Laboratorium Ilmu Faal FK Universitas Brawijaya Malang

Email : herma\_du@yahoo.com

## **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh epigallocatechin gallate (EGCG) teh hijau klon GMB4 dalam menghambat peningkatan kadar kolesterol pada tikus galur wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak. Penelitian dilakukan secara *in vivo* dengan pemeliharaan hewan coba selama 8 minggu yang dibagi dalam lima kelompok perlakuan dengan diet tinggi lemak dan pemberian EGCG per sonde. Metode yang digunakan adalah spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa EGCG menurunkan kadar kolesterol ( $p < 0,05$ ). Kadar kolesterol menurun signifikan sebesar 55% ( $p = 0,00$ ) pada dosis 8 mg/kg BB jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (+). Disimpulkan bahwa EGCG yang merupakan komponen terbesar dari katekins teh hijau mampu menghambat peningkatan kadar kolesterol yang merupakan faktor resiko kardiovaskular.

**Kata Kunci : EGCG GMB4 ; kolesterol; tikus diet tinggi lemak.**

## *Abstract*

*This study investigated the effect of EGCG from GMB4 green tea clones inhibit increasing cholesterol levels in male rats with high fat diet. Wistar male rats were fed a diet high in fat for 2 months from 8 weeks of age and determination of the object of research with completely randomized design five treatments and EGCG was given by sonde. Blood cholesterol levels by spektrofotometry. EGCG treatment decreased cholesterol levels ( $p < 0.05$ ). Cholesterol levels decreased 55% ( $p = 0.00$ ) at doses of 8 mg / BW. The Results suggested that EGCG one of the most abundant catechins contained in green tea effectively inhibits increased cholesterol levels, that risk factor for cardio vascular disease.*

*Keywords : cholesterol; EGCG GMB4; male rats with high fat diet.*

## **PENDAHULUAN**

Penyakit Jantung Koroner (PJK) merupakan penyebab mortalitas dan morbiditas yang cukup tinggi. Berdasarkan data WHO diperkirakan 3,8 juta pria dan 3,4 juta wanita di seluruh dunia setiap tahun meninggal karena PJK. Atherosklerosis merupakan kontributor utama terhadap patogenesis terjadinya penyakit jantung koroner yang menjadi penyebab utama kematian (WHO, 2003 ). Salah satu faktor resiko yang menyebabkan progresivitas atherosklerosis adalah dislipidemia. Diet tinggi lemak dan obesitas merupakan salah satu pencetus dislipidemia. Kadar kolesterol yang tinggi di dalam darah atau yang disebut dengan hiperkolesterolemia merupakan satu dari beberapa faktor resiko utama penyakit jantung koroner (Kratz, 2005).

Hiperkolesterolemia dapat mengganggu fungsi endotel dan mengakibatkan peningkatan produksi radikal bebas. Radikal ini menonaktifkan oksida nitrit, yaitu faktor endotel-relaxing utama. Apabila terjadi hiperlipidemia kronis lipoprotein tertimbun dalam intima, pematangan

terhadap radikal bebas ini menyebabkan oksidasi LDL-C yang berperan mempercepat terjadinya aterosklerosis. Hiperkolesterolemia memicu terjadinya adhesi monosit, migrasi ke sel otot polos sub endotel dan penimbunan lipid dalam sel-sel otot polos. Apabila terpajan dengan LDL-C yang teroksidasi, makrofag menjadi sel yang busa, yang beragregasi dalam lapisan intima yang terlihat secara makroskopis sebagai bercak lemak. Akhirnya deposit lipid dan jaringan ikat mengubah bercak lemak menjadi ateroma lemak fibrosa matur. Ateroma dapat mengalami perdarahan, ulserasi, kalsifikasi atau trombosis dan menyebabkan infark miokardium (Price, 2005).

Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi adalah EGCG yang diisolasi dari tanaman teh (*Camellia sinensis*). Lembaga Penelitian Teh dan Kina Gunggung telah mengembangkan klon tanaman teh yaitu klon GMB4 dengan kadar katekin lebih tinggi daripada tanaman teh lainnya, sementara itu Ratnawati *et al.*, (2009) telah melakukan isolasi dan purifikasi golongan senyawa katekin dan EGCG pada pucuk daun ketiga *camellia sinensis varitas assamica* (p+3) dari klon (GMB 4) yang diperoleh dari Lembaga penelitian teh dan kina (PPTK) Gunggung, Ciwidey Bandung, Jawa Barat, dimana dari 100 gr teh hijau tersebut terdapat 14-16 % isolat golongan senyawa katekin. Dan sudah dilaksanakan studi secara *in vitro*, untuk itu perlu dilaksanakan secara *in vivo* untuk mengetahui potensi yang dimiliki oleh EGCG sehingga bisa dimanfaatkan sebagai alternatif pencegahan aterosklerosis.

Berdasarkan uraian diatas maka penulis ingin membuktikan bahwa *Epigallocatechin gallate* (EGCG) teh hijau menghambat peningkatan kadar kolesterol darah pada tikus galur wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak.

## METODA

### Desain penelitian

Penelitian ini termasuk eksperimental laboratorium dan penentuan objek penelitian dengan Rancangan Acak Lengkap dengan lima perlakuan, yaitu ( 1 ) Tikus dengan diet pakan standart ( 2 ) Tikus dengan diet tinggi lemak , ( 3 ) Tikus dengan diet tinggi lemak + EGCG 1 mg/kgBB ( 4 ) Tikus dengan diet tinggi lemak + EGCG 2 mg/kgBB ( 5 ) Tikus dengan diet tinggi lemak + EGCG 8 mg/kgBB. Perlakuan dilaksanakan selama 60 hari. Kelayakan etik penelitian dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan No.108/EC/KEPK-S2-JK/05/2011.

EGCG didapatkan dari isolasi dan purifikasi teh kon (GMB4) oleh Ratnawati *et al.*(2009), yang diperoleh dari PPTK Gunggung, Ciwidey, Bandung. Sampel yang digunakan adalah tikus percobaan berjumlah 25 ekor dengan rincian 5 ekor untuk masing-masing perlakuan, sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut, kriteria inklusi : Tikus jenis *Rattus norvegicus strain wistar*, jenis kelamin jantan, umur 6 - 8 minggu, berat badan antara 150 gram s.d. 200 gram, warna bulu putih tikus aktif dan kriteria eksklusi : tikus yang tidak mau makan dan tikus yang mengalami penurunan keadaan fisik atau mati.

### Waktu dan tempat penelitian

Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Maret s.d November 2011.

### Prosedur Penelitian

#### Pembuatan pakan tikus

Pakan standart yang terdiri dari pakan ayam / ParS (dengan kandungan air, protein, lemak, serat, abu, Ca, Phospor, antibiotika, coccidiostat) 66.6% dan tepung terigu 33.4%. Diet tinggi lemak yang terdiri dari pakan standart (pakan ayam / ParS 57.3% dan tepung terigu 31.8%) ditambah kolesterol 1.9%, asam kolat 0,1% dan minyak babi 8.9%.

### Perlakuan pada hewan coba

Sebelum perlakuan, tikus diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama dua minggu. Tikus dibagi dalam lima kelompok perlakuan. Pakan tikus diberikan secara oral, sedangkan EGCG diberikan melalui sonde satu kali sehari. Kemudian berat badan ditimbang setiap satu minggu. Setelah 60 hari perlakuan tikus dipuasakan semalam, kemudian ditimbang berat badannya, tikus di euthanasia dengan chloroform dosis tinggi dan dilakukan pembedahan.

### Pemeriksaan kadar kolesterol serum puasa

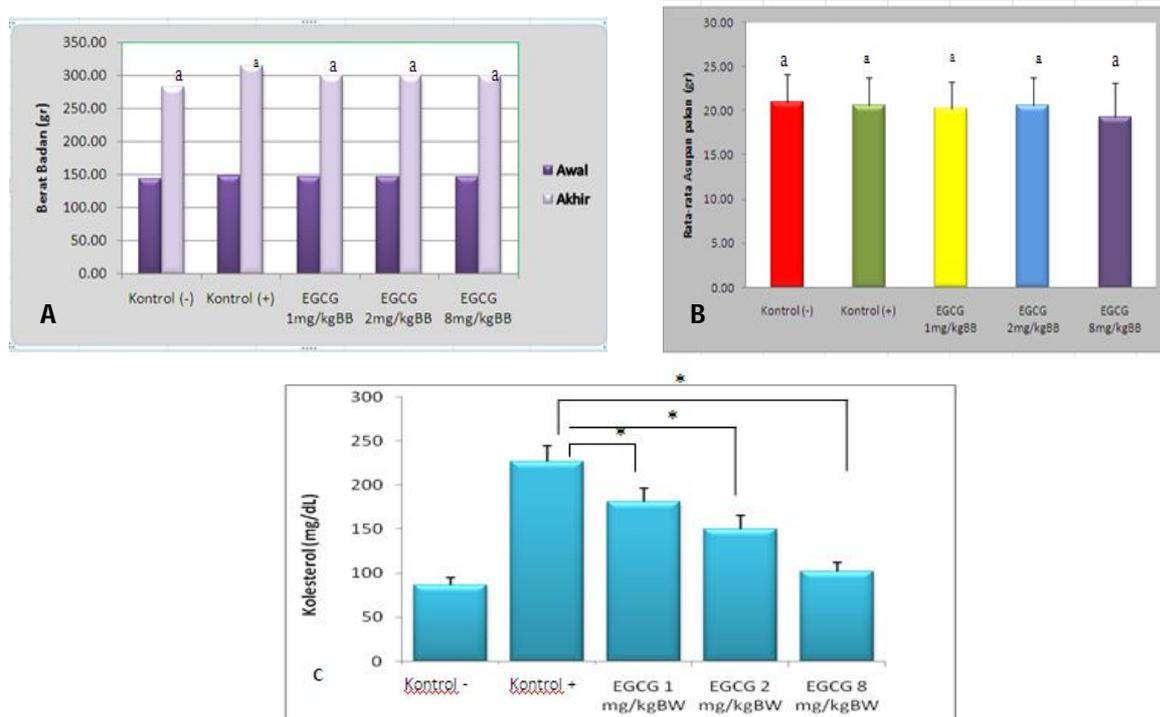
Pengambilan darah dari jantung,  $\pm 3$  ml, lalu diputar menggunakan sentrifugator dengan kecepatan 3000 rpm 10 menit (2x), diambil serumnya. Pengukuran kadar kolesterol dengan *specific colorimetric assays* (Horiba ABX Diagnostics, Montpellier, France)

### Metode Penyajian dan Analisis Data

Data hasil penelitian disajikan dalam  $mean \pm SD$ . Kemudian semua data dianalisis dengan menggunakan statistik parametrik dengan SPSS versi 17, yaitu *One-Way ANOVA* setelah memenuhi persyaratan distribusi data yang normal dan varians data yang sama. Dilanjutkan dengan uji *Tuckey* untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok.

## PEMBAHASAN

Pemeliharaan hewan coba selama 2 bulan, dilakukan berdasarkan pertimbangan penelitian yang dilakukan oleh Wilde (2009), menunjukkan bahwa diet tinggi lemak yang diberikan selama 8 minggu dapat menginduksi obesitas (Park *et al.*, 2001). Hewan coba sebelum diberikan perlakuan diaklimatisasi selama dua minggu dengan tujuan untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan tempat penelitian sehingga diharapkan tidak ada pengaruh kondisi lingkungan terhadap kondisi hewan coba dan hasil penelitian secara umum. Diet pakan yang diberikan adalah diet tinggi lemak yang merupakan diet aterogenik.



Gambar 1. a. Berat badan sebelum dan sesudah perlakuan; b. Rata-rata asupan pakan selama perlakuan; c. Kolesterol darah. Hasil ini menunjukkan Mean  $\pm$  SD, perbedaan yang signifikan ditandai dengan asterisk (\*  $p < 0,05$ ).

Dari hasil penelitian perbandingan berat badan awal dan akhir pada masing-masing kelompok perlakuan tidak ada perbedaan peningkatan berat badan pada kelompok perlakuan. sehingga pada penelitian ini EGCG tidak memiliki efek pada penurunan berat badan hal ini sejalan dengan hasil yang didapatkan pada asupan pakan dimana pada asupan pakan akhir tidak ada pengaruh signifikan antara kelompok kontrol (+) pemberian diet tinggi lemak dengan kelompok pemberian EGCG. Sementara itu terdapat pengaruh EGCG terhadap kadar kolesterol ( $p=0,00$ ), dan kadar kolesterol menurun signifikan sebesar 55% ( $p=0,00$ ) pada dosis 8 mg/kgBB, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol(+).

Pada penelitian ini EGCG dapat menghambat peningkatan kadar kolesterol darah, padahal dalam komponen diet yang diberikan pada tikus percobaan terdiri dari pakan standart (pakan ayam / Par S 57,3% dan tepung terigu 31,8%) ditambah kolesterol 1,9% asam kolat 0,1% dan minyak babi 8,9%. Pemberian pakannya setiap hari dan selama 8 minggu, jika kita lihat seperti pada Gambar 1. pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak tanpa EGCG kadar kolesterolnya tinggi, karena memang konsumsi setiap harinya mengandung kolesterol dan pada kelompok yang diberikan diet tinggi lemak dan EGCG terdapat pola penurunan, semakin tinggi dosis semakin menurun kadar kolesterolnya, dan pada dosis 8 mg/kgBB sudah hampir mendekati kelompok yang tidak diberi diet tinggi lemak.

Kolesterol merupakan faktor resiko penyakit kardiovaskuler akibat adanya oksidasi LDL-kolesterol dan beberapa penelitian telah meneliti pengaruh katekins teh hijau dalam menurunkan resiko PJK karena komponen bioaktifnya sebagai antiinflamasi dan antioksidant (Wang *et al.*, 2006), penelitian sebelumnya telah membuktikan katekins dapat menghambat peroksidasi lipid dan oksidasi LDL secara *in vitro*. Katekin juga dikatakan menurunkan kadar kolesterol pada tikus dan hamster (Yang *et al.*, 2001). Dan dijelaskan juga bahwa penurunan lemak plasma sebgaiian karena penghambatan pada absorpsi di intestinal. (Ikeda *et al.*, 2003).

Trevisanato dan Kim (2000), mengatakan bahwa teh hijau dapat menurunkan aterogenesis melalui penurunan oksidatif LDL-kolesterol dan berhubungan dengan penurunan bentukan foam sel, kerusakan sel endothelial dan penurunan cytokin proinflamasi. Gomikawa and Ishikawa (2002) menjelaskan bahwa katekin mensupresi LDL oleh CuSO<sub>4</sub> studi *in vitro* dan oksidasi plasma *in vivo* setelah minum polipenol teh hijau. Kemudian mengenai bioavailabilitasnya juga ada yang meneliti dimana konsentrasi polipenol teh hijau ada dalam tubuh setelah mengonsumsinya (Scalabert dan Williamson, 2000). Dan penelitian yang lain juga menjelaskan bahwa katekins menurunkan plasma kolesterol dan absorpsi kolesterol (Raederstorff *et al.* 2003)

Sumber antioksidan yang terdapat pada teh hijau yang paling utama adalah polipenol (katekin dan asam gallat) yang kandungannya lebih besar jika dibandingkan dengan teh hitam atau Oolong (Cabreria *et al.*, 2007). Katekin adalah senyawa dominan dari polifenol yang terdiri dari *epicatechin*, *epigallocatechin*, *epicatechin-3-gallate* dan *epigallocatechin-3-gallate*. EGCG merupakan komponen utama katekin (59%) merupakan anti oksidan kuat dengan kekuatan hingga 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E dan C.

Teh hijau merupakan minuman yang umum dikonsumsi oleh negara-negara di Asia (Kao *et al.*, 2000). Akan tetapi terutama di Asia termasuk Indonesia lebih umum konsumsi teh hitam jika dibandingkan dengan teh hijau dimana pada penelitian didapatkan data 76–78% konsumsi teh hitam, 20–22% konsumsi teh hijau dan kurang dari 2 % konsumsi teh oolong (Wu and Wei, 2002). Dosis rata-rata harian teh hijau adalah 125 mg sampai 250 mg. Satu cangkir teh hijau (100 ml) mengandung 50-100 mg polifenol, termasuk di dalamnya 20-35 mg EGCG. (Kao *et al.*, 2000). Wu and Wei, (2002) menjelaskan satu cangkir teh ( 2,5 gr daun teh dalam 200 ml air) terdiri dari 90 mg EGCG.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dr **Ciptati** (Laboratorium kimia, fakultas Science, Institut Teknologi Bandung), Dr. **Rohayati Suprihatini** (PPTK Gambung, Ciwedey, Bandung), yang telah membantu penyediaan EGCG pada kami. Semua staf pada Laboratorium fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, khususnya Satuman, S.Si.,Mkes, terimakasih banyak telah membantu eksperimen kami. Penelitian ini didukung oleh Program Insentif Riset Dasar, RISTEK Kementerian Negara Riset dan Teknologi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Cabrera C, Artacho R and Gime R.2006.Beneficial Effects of Green T. *Journal of the American College of Nutrition*. 25(2): 79–99
- Gomikawa S and Ishikawa Y . 2002. Effects of catechins and ground green tea drinking on the susceptibility of plasma and LDL to the oxidation *in vitro* and *ex vivo*. *J Clin Biochem Nutr*. 32:55–68.
- Ikeda I, Kobayashi M, Hamada T, Tsuda K, Goto H, Iamizumi K, Nozawa A, Sugimoto A and Kakuda T. 2003. Heat-epimerized tea catechins rich in gallocatechin gallate and catechin gallate are more effective to inhibit cholesterol absorption than tea catechins rich in epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *J Agric Food Chem*. 51:7303–7.
- Kao YH, Hiipakka RA and Liao S. (2000). Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology*. 141(3): 980-987.
- Kratz M. 2005. Dietary cholesterol, atherosclerosis and coronary heart disease.*Handb Exp Pharmacol*. 170:195-213.
- Price S. 2005. *Textbook of Pathophysiology*. 6th ed. Jakarta : EGC.
- Ratnawati R, Ciptati dan Satuman. (2009) Isolasi EGCG dari Teh Hijau Klon GMB4 Jawa Barat. Laporan Penelitian Program Insentif Riset Dasar, RISTEK Kementerian Negara Riset dan Teknologi.
- Raederstoff DG and Schlachter MF, Elste V, Weber P. 2003. Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J Nutr Biochem*. 14:326–332.
- Scalabert A and Williamson G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*. 130:2073S–2085S.
- Trevisanato S and Kim Y. 2000. Tea and health. *Nutr Rev* .58:1–10.
- Wang S, Sang K, Noh and Sung I. 2006. Epigallocatechin Gallate and Caffeine Differentially Inhibit the Intestinal Absorption of Cholesterol and Fat in Ovariectomized Rats1. *J. Nutr*. 136: 2791–2796.
- World Health Organization. 2003. Deaths from coronary heart disease, Available from URL:[http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/en/cvd\\_atlas\\_14\\_deathHD.pdf](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/cvd_atlas_14_deathHD.pdf)
- Wu CD and Wei GX 2002. Tea as a functional food for oral health.*Nutrition* .18:443–444.
- Yang MH, Wang CH and Chen HL.2001. Green, oolong and black tea extracts modulate lipid metabolism in hyperlipidemia rats fed high-sucrose diet.*J Nutr Biochem*. 12:14–20.