

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Demensia telah menjadi salah satu tantangan serius dalam dunia kesehatan global. Demensia adalah suatu sindrom yang terdiri atas gejala-gejala daya kognitif global yang tidak disertai dengan gangguan derajat kesadaran.¹ *Alzheimer's Disease International* (ADI) memperkirakan bahwa saat ini terdapat lebih dari 30 juta orang penderita demensia di seluruh dunia, dengan 4,6 juta kasus baru setiap tahun (satu kasus baru setiap 7 detik).² Menurut *World Report Alzheimer* tahun 2009, diperkirakan bahwa pada tahun 2030 akan terdapat 65,7 juta kasus demensia di seluruh dunia, dan akan mengalami peningkatan menjadi 115,4 juta kasus pada tahun 2050. Peningkatan ini terutama terjadi pada masyarakat dengan penghasilan menengah ke bawah. Perkiraan ini berasal dari studi berbasis populasi yang meneliti prevalensi demensia di berbagai wilayah dunia.²⁻⁵ Berdasarkan *The World Health Report* tahun 2003, demensia berkontribusi sebesar 11,2% untuk kasus disabilitas pada subyek usia 60 tahun ke atas; lebih besar dibandingkan dengan stroke (9,5%), gangguan muskuloskeletal (8,9%), penyakit kardiovaskuler (5%), dan semua jenis kanker (2,4%).⁶

Penyakit Alzheimer adalah penyebab utama demensia (50-75%) pada usia lanjut.⁷ Penyakit Alzheimer merupakan penyakit neurodegeneratif yang bersifat progresif dan *irreversible*, ditandai dengan menurunnya fungsi

kognitif dan memori, serta terjadinya degenerasi pada neuron kolinergik.⁸⁻¹⁰ Beberapa penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif dan proses peradangan/ inflamasi memainkan peran penting dalam patogenesis *brain aging* dan penyakit neurodegeneratif seperti penyakit Alzheimer.¹¹⁻¹⁷ Proses neuroinflamasi yang terjadi ditandai dengan adanya aktivasi dari microglia dan peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi, seperti TNF- α dan IL-1 β pada sistem saraf pusat.^{18,19} TNF- α sangat berperan dalam proses neuroinflamasi otak. Selain berfungsi dalam proses diferensiasi dan proliferasi beberapa jenis sel, TNF- α juga berperan dalam memicu proses apoptosis sel. Terdapat peningkatan ekspresi TNF- α pada sistem saraf pusat setelah proses iskemik akut dan pada penyakit neurodegeneratif kronis.^{20,21}

Stres oksidatif adalah suatu kondisi ketidakseimbangan antara molekul pro-oksidan dengan sistem antioksidan.²² Produksi berlebih dari senyawa oksigen reaktif dan atau penurunan aktivitas enzim antioksidan di otak dapat menyebabkan proses peroksidasi lipid, kerusakan DNA mitokondria, serta oksidasi protein, yang akhirnya menyebabkan gangguan fungsi neurokognitif.¹⁷ Malondialdehid (MDA) adalah senyawa dialdehid yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid di dalam tubuh. MDA terbentuk akibat degradasi radikal bebas OH terhadap asam lemak tidak jenuh yang diubah menjadi radikal bebas yang sangat reaktif, sehingga pengukuran MDA sering digunakan sebagai indikator peroksidasi lipid jaringan.^{12,16,22,23} Pada penelitian ini, TNF- α dipilih sebagai salah satu variabel yang diteliti karena perannya yang sangat vital dalam proses

neuroinflamasi otak, sedangkan MDA diteliti karena merupakan produk akhir proses peroksidasi lipid yang dapat mewakili proses stres oksidatif di susunan saraf pusat.

Memori spasial merupakan salah satu indikator penting dalam menilai fungsi neurokognitif suatu individu. Hipokampus merupakan bagian otak yang penting dalam memediasi fungsi memori spasial dan kontekstual. *Morris water maze* (MWM) adalah pemeriksaan standar yang digunakan untuk menilai perilaku hewan coba khususnya fungsi memori terkait hipokampus (*hippocampus-dependent memory*).^{24,25}

Hewan coba yang diinjeksi oleh D-galaktose diketahui banyak digunakan dalam penelitian-penelitian *brain aging* dan penyakit neurodegeneratif. D-galaktose diketahui dapat menyebabkan gangguan memori spasial dan kerusakan sel saraf karena menimbulkan kerusakan metabolik seluler dengan cara menurunkan aktivitas enzim Na^+ , K^+ , ATPase, dan meningkatkan stress oksidatif melalui peningkatan peroksidasi lipid dan penurunan aktivitas enzim antioksidan.¹⁷

Hingga saat ini, belum ditemukan obat yang dapat menyembuhkan demensia, khususnya demensia karena penyakit Alzheimer. Pengobatan yang diberikan umumnya bersifat simptomatik dan bertujuan untuk mengurangi progresivitas penyakit. Oleh karena itu diperlukan banyak penelitian untuk pengembangan sediaan obat-obatan, baik farmakologik maupun non-farmakologik yang bertujuan untuk mengobati, maupun mencegah terjadinya demensia.

Penggunaan tanaman sebagai obat sudah dikenal luas dan dilakukan oleh masyarakat secara turun temurun karena dianggap lebih aman dan lebih murah. Akan tetapi, pemanfaatan tanaman sebagai salah satu pengobatan alternatif maupun pengganti obat moderen membutuhkan serangkaian pengujian seperti uji khasiat, uji pre klinik, sampai uji klinik dengan didukung oleh pengembangan bentuk sediaan yang lebih baik agar efektifitasnya dapat dioptimalkan. Teh telah mengalami perubahan status dari minuman kuno menjadi suatu bentuk tanaman obat yang prospektif secara neurofarmakologik dan bermanfaat bagi kesehatan manusia. Teh hijau adalah minuman asli benua Asia yang terbuat dari daun tanaman *Camellia sinensis* yang dikeringkan. Teh hijau memiliki efek potensial dalam pencegahan dan pengobatan kanker, penyakit kardiovaskuler, inflamasi, dan penyakit neurodegeneratif.^{14,17,26-30}

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) merupakan polifenol utama pada teh hijau yang memiliki efek antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan neuroprotektif.^{15,17,31-33} Penelitian menunjukkan bahwa pemberian EGCG (2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB) secara per oral selama 4 minggu secara signifikan mampu meningkatkan kemampuan kognitif, aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) dan *glutathione peroxydase* (GSH-Px), menurunkan kadar malondialdehid (MDA), indeks apoptosis sel, serta aktivitas protein caspase-3 pada hipokampus mencit yang diinduksi D-galaktose.¹⁷ Pada penelitian *cross-sectional* di Jepang yang meneliti hubungan antara konsumsi teh hijau dengan fungsi kognitif, menyebutkan bahwa konsumsi teh hijau 2 cangkir atau lebih per hari (100 ml/

cangkir) memiliki hubungan dengan penurunan prevalensi gangguan fungsi kognitif.³⁴ Namun, pada penelitian lain disebutkan bahwa pemberian EGCG dengan dosis 50 mg/kgBB tidak mampu meningkatkan kemampuan memori spasial maupun memperbaiki kerusakan sel saraf otak pada mencit Balb/c yang diinduksi iskemik berulang.³⁵

Oleh karena latar belakang tersebut, penelitian ini mencoba untuk membuktikan efek EGCG teh hijau terhadap fungsi memori spasial, status stres oksidatif, dan status neuroinflamasi pada mencit Balb/c yang diinduksi D-galaktose dengan dosis bertingkat (2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB). Penggunaan dosis bertingkat dimaksudkan untuk mendapatkan dosis paling efektif yang dapat memberikan hasil yang optimal.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Apakah pemberian *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) teh hijau dapat memberikan efek terhadap fungsi memori spasial, status stres oksidatif, dan status neuroinflamasi pada mencit Balb/c yang diinduksi D-galaktose?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk membuktikan efek pemberian *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) teh hijau terhadap fungsi memori spasial, status stres oksidatif, dan status neuroinflamasi pada mencit Balb/c yang diinduksi D-galaktose.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk:

- a. Membuktikan fungsi memori spasial pada mencit Balb/c yang diinduksi D-galaktose dan diberi EGCG teh hijau dengan dosis 2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi.
- b. Membuktikan kadar MDA pada mencit Balb/c yang diinduksi D-galaktose dan diberi EGCG teh hijau dengan dosis 2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi.
- c. Membuktikan kadar TNF- α pada mencit Balb/c yang diinduksi D-galaktose dan diberi EGCG teh hijau dengan dosis 2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi EGCG teh hijau.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan penelitian pemanfaatan teh hijau dalam dunia kesehatan, khususnya dalam pencegahan dan terapi alternatif demensia.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan keilmuan, baik dalam bidang neurologi, imunologi, maupun *herbal medicine*.

1.5 Orisinalitas

Tabel 1. Penelitian yang berhubungan dengan EGCG, fungsi kognitif, dan neuroinflamasi.

Pengarang, Tahun	Judul, Penerbit	Metode Penelitian, Jumlah Sampel	Hasil
Biasibetti R, Tramontina AC, Costa AP, et al. 2013	Green tea (-) epigallocatechin-3-gallate reverses oxidative stress and reduces acetylcholinesterase activity in a streptozotocin-induced model of dementia. <i>Behav Brain Res.</i> 2013;236(1):186–93.	Penelitian menggunakan 43 tikus Wistar jantan usia 3 bulan, yang dibagi dalam 4 kelompok: kontrol normal (sham), kontrol negatif (induksi STZ <i>intracerebroventrikular</i>), sham+EGCG, STZ+EGCG. EGCG diberikan dengan dosis 10 mg/kgBB setiap hari selama 4 minggu, mulai 2 minggu paska induksi STZ.	Pemberian EGCG 10 mg/kgBB selama 4 minggu mampu memperbaiki gangguan fungsi memori spasial, memperbaiki stress oksidatif, serta menurunkan aktivitas enzim Asetilkolinesterase pada tikus yang diinduksi demensia.
Miao HE, Hao LZ, Ei MW, Ao WY, Hao HZ, Hen FC. 2009	Neuroprotective Effects of (-) <i>Epigallocatechin-3-gallate</i> on Aging Mice Induced by D-Galactose. <i>Biol Pharm Bull.</i> 32(1):55 – 60	Penelitian menggunakan 64 ekor mencit Kunming usia 6-8 minggu, dibagi dalam 4 kelompok (n = 16), yang terdiri dari kelompok kontrol teknik; kontrol negatif; kelompok perlakuan 1 (diinduksi + mendapat EGCG 2 mg/kgBB; dan perlakuan 2 (diinduksi + mendapat EGCG 6 mg/kgBB).	Pemberian EGCG (2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB) secara per oral selama 4 minggu pasca induksi D-galaktose secara signifikan mampu meningkatkan kemampuan kognitif, memperbaiki stress oksidatif serta menurunkan aktivitas protein caspase-3 pada hipokampus mencit yang diinduksi D-galaktose.

<p>Ejaz Ahmed M, Khan MM, Javed H, Vaibhav K, Khan A, Tabassum R, et al.</p> <p>2013 Mar</p>	<p>Amelioration of cognitive impairment and neurodegeneration by <i>catechin hydrate</i> in rat model of streptozotocin- (STZ) induced experimental dementia of Alzheimer's type.</p> <p>Neurochem Int. 2013 Mar; 62(4):492–501.</p>	<p>Penelitian menggunakan 48 ekor tikus Wistar jantan usia 1 tahun yang dibagi dalam 6 kelompok yang terdiri dari K1 (tidak diinduksi STZ), K2 (diinduksi STZ), K3 (diinduksi STZ + mendapat <i>catechin hydrate</i> (CH) 10 mg/kgBB), K4 (diinduksi STZ+mendapat CH 20 mg/kgBB), K5 (tidak diinduksi STZ+ mendapat CH 10 mg/kgBB), K6 (tidak diinduksi STZ + mendapat CH 20 mg/kgBB). CH diberikan secara oral setiap hari selama 3 minggu paska induksi demensia dengan STZ.</p>	<p>Pemberian CH mampu meningkatkan kemampuan kognitif, aktivitas enzim SOD, GSH-Px dan katalase, menurunkan kadar MDA, meningkatkan ekspresi choline acetyl transferase, serta menurunkan kadar TNF-α, IL-1β, serta iNOS.</p>
<p>Wu K-J, Hsieh M-T, Wu C-R, Wood WG, Chen Y-F.</p> <p>2012 Jan</p>	<p>Green Tea Extract Ameliorates Learning and Memory Deficits in Ischemic Rats via Its Active Component Polyphenol <i>Epigallocatechin-3-gallate</i> by Modulation of Oxidative Stress and Neuroinflammation.</p> <p>Hindawi Publishing Corporation</p>	<p>Penelitian ini menggunakan 42 ekor tikus Sprague Dawley jantan berusia 8-9 minggu yang dibagi menjadi 7 kelompok (n=6). Kelompok perlakuan adalah kelompok yang diinduksi iskemik reperfusi dan mendapat ekstrak teh hijau dengan dosis 30, 100, 300 mg/kgBB, <i>epigallocatechin-3-gallate</i> (EGCG) 10 mg/kgBB, pentoxifyllin 10 mg/kgBB.</p>	<p>Pemberian ekstrak teh hijau dan EGCG terbukti dapat memperbaiki gangguan memori pada mencit yang diinduksi iskemik, menurunkan kadar MDA, dan meningkatkan aktivitas enzim SOD dan GSH-Px.</p>
<p>Prasetia Aji Ramadhan, M. Ihwan Narwanto, K. Dian Sofiana</p> <p>2013</p>	<p>Efek ekstrak teh hijau (<i>Camellia sinensis</i>) terhadap memori kerja spasial tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>) remaja yang diinduksi etanol</p>	<p>Penelitian ini dilakukan pada 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok, K1, K2, P1, P2, dan P3. K1 menggunakan etanol 20% dosis 2gr/kgBB, K2 menggunakan aquadest. Kelompok P dengan pemberian etanol 2 gr/kgBB dan ekstrak teh hijau 108mg/200grBB, 216mg/200grBB, dan 432mg/200grBB berturut-turut untuk P1, P2, dan P3. Pemberian etanol dan ekstrak teh hijau dilakukan selama 14 hari.</p>	<p>Pemberian ekstrak teh hijau berpengaruh pada memori spasial tikus remaja yang diinduksi etanol selama 14 hari.</p>

Pada penelitian-penelitian sebelumnya tersebut, diteliti mengenai efek pemberian ekstrak teh hijau terhadap fungsi memori spasial. Menurut Prasetya Aji Ramadhan dkk, disebutkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau berpengaruh pada peningkatan memori spasial tikus remaja yang diinduksi etanol selama 14 hari. Begitu juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Wu et.al, disebutkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau dapat memperbaiki gangguan memori pada mencit yang diinduksi stroke iskemik. Sedangkan Ejaz Ahmed et.al menggunakan *catechin* hidrat untuk meneliti efeknya terhadap mencit Balb/c yang diinduksi streptozotocin intraventrikuler. Pada penelitian tersebut didapatkan bahwa pemberian *catechin* hidrat mampu memperbaiki kemampuan kognitif dan status stres oksidatif. Penelitian lain oleh Miao He et.al menunjukkan bahwa pemberian EGCG (2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB) secara per oral selama 4 minggu mampu meningkatkan kemampuan kognitif, aktivitas enzim SOD dan GSH-Px, menurunkan kadar malondialdehid (MDA), indeks apoptosis sel, serta aktivitas protein caspase-3 pada hipokampus mencit yang diinduksi D-galaktose. Penelitian oleh Miao He et.al tersebut meneliti efek EGCG 2 minggu paska induksi dengan D-galaktose. Pada penelitian tersebut juga tidak diteliti mengenai status neuroinflamasi pada mencit.

Penelitian ini berbeda dari penelitian-penelitian sebelumnya karena penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek pencegahan demensia, bukan efek terapi, dengan pemberian EGCG di awal bahkan sebelum induksi demensia dilakukan. Pada penelitian ini tidak menggunakan ekstrak teh hijau tetapi langsung menggunakan senyawa murni EGCG yang merupakan polifenol utama teh hijau, untuk dapat meneliti secara lebih rinci mengenai

efek teh hijau terhadap fungsi neuro kognitif. EGCG diberikan dalam 2 tingkatan dosis yaitu 2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB setiap hari selama 5 minggu untuk mengetahui dosis efektif yang dibutuhkan. Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah fungsi memori spasial dengan *morris water maze* (MWM), kadar MDA, dan kadar TNF- α dengan sampel hipokampus mencit.