

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK AIR TEH HIJAU TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI MUKOSA LAMBUNG TIKUS STRAIN
WISTAR YANG DIINDUKSI INDOMETASIN**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Shaza Nathasya S

NIM. 155070100111076

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Anatomi dan Fisiologi Lambung.....	5
2.2 Ulkus Gaster.....	6
2.2.1 Tata Laksana Ulkus Gaster	7
2.3 Inflamasi	8
2.3.1 Inflamasi Akut.....	9
2.3.2 Inflamasi Kronik	9
2.4 Mediator Inflamasi	10
2.5 Cyclooxygenase (COX).....	13
2.6 Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS)	15
2.7 Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>).....	19
2.7.1 <i>Epigallocatechin gallate</i>	21
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	23
3.1 Kerangka Konsep.....	23



3.2	Penjelasan Kerangka Konsep	24
3.3	Hipotesis Penelitian	24
BAB IV METODE PENELITIAN		25
4.1	Rancangan Penelitian	25
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian.....	25
4.2.1	Populasi Penelitian	25
4.2.2	Sampel Penelitian.....	25
4.2.3	Kriteria Sampel	26
4.2.3.1	Kriteria Inklusi	26
4.2.3.2	Kriteria Eksklusi	26
4.3	Variabel Penelitian	27
4.3.1	Variabel Bebas (Independen).....	27
4.3.2	Variabel Terikat (Dependen)	27
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian	27
4.4.1	Tempat Penelitian.....	27
4.4.2	Waktu Penelitian.....	27
4.5	Alat dan Bahan Penelitian	27
4.5.1	Bahan Penelitian	27
4.5.1.1	Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba	27
4.5.1.2	Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba	28
4.5.1.3	Bahan untuk Pembuatan Preparat	28
4.5.2	Alat Penelitian.....	28
4.5.2.1	Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba.....	28
4.5.2.2	Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba.....	29
4.5.2.3	Alat untuk Pembuatan Ekstrak Air Teh Hijau	29
4.5.2.4	Alat untuk Pemberian Indometasin dan Perlakuan	29
4.5.2.5	Alat untuk Pengambilan Organ Hewan Coba.....	29
4.5.2.6	Alat untuk Pembuatan Preparat	30
4.5.2.7	Alat Penilaian Gambaran Histopatologi Mukosa Lambung ..	30
4.6	Definisi Operasional	30
4.7	Prosedur Penelitian	31
4.7.1	Persiapan Hewan Coba.....	31
4.7.2	Pembuatan Model Hewan Ulkus Gaster	31
4.7.3	Pemberian Ekstrak Air Teh Hijau	31
4.7.4	Pengambilan Organ Hewan Coba dan Pembuatan Preparat.....	32
4.7.5	Bagan Alur Penelitian	33
4.7.6	Metode Pengumpulan Data.....	33
4.8	Analisis Data	33
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA		34
5.1	Hasil Pengamatan Gambaran Histopatologi Epitel Mukosa Lambung.....	34
5.2	Analisis Data	37
5.2.1	Uji Kruskal Wallis	37



5.2.2 Uji Mann Whitney	38
5.2.3 Uji Korelasi Spearman.....	38
BAB VI PEMBAHASAN	40
BAB VII PENUTUP	44
7.1 Kesimpulan.....	44
7.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	51



HALAMAN PENGESAHAN

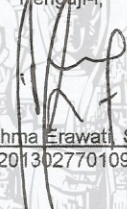
TUGAS AKHIR

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK AIR TEH HIJAU TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI MUKOSA LAMBUNG TIKUS STRAIN WISTAR YANG
DIINDUKSI INDOMETASIN

Oleh:
SHAZA NATHASYA SANDAKH
155070100111076

Telah diuji pada
Hari: Selasa
Tanggal: 13 November 2018
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I,


dr. Dini Rachma Erawati, Sp. Rad (K)
NIP. 2013027701092001

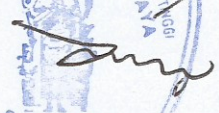
Pembimbing-I/Penguji-II,


Dr. dr. Umi Kalsum, M. Kes
NIP. 195505121987012001

Pembimbing-II/Penguji-III,


dr. Kenty Wantri Anita, M. Kes, Sp. PA
NIP. 19720715199032002

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,


dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Sandakh, Shaza N. 2018. *Efek Pemberian Ekstrak Air Teh Hijau terhadap Gambaran Histopatologi Mukosa Lambung Tikus Strain Wistar yang Diinduksi Indometasin*. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes (2) dr. Kenty Wantri Anita, M.Kes, Sp. PA.

Latar Belakang: Ulkus gaster merupakan keadaan terjadinya kerusakan mukosa lambung sampai lapisan otot akibat inflamasi. Teh hijau yang telah diketahui memiliki banyak manfaat dalam dunia kesehatan mengandung *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) yang dapat dipergunakan sebagai antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan COX-2 dan mediator inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β dan IFN- γ . Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek ekstrak air teh hijau terhadap gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin. **Metode:** Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan rancangan *post-test only, control group design* menggunakan 25 hewan coba tikus strain Wistar jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB dan 3 kelompok perlakuan yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB dan pada kelompok perlakuan diberi ekstrak air teh hijau 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB berturut – turut. Penilaian gambaran kedalaman lesi histopatologi epitel mukosa lambung tikus menggunakan modifikasi sistem skoring oleh Sibilis *et al.* **Hasil:** menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada gambaran histopatologi epitel mukosa lambung setelah diberi ekstrak air teh hijau (Kruskal Wallis, $p=0.000$). Hasil uji Mann Whitney menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan keempat kelompok lainnya serta antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak air teh hijau 50 mg/kgBB ($p<0,05$). Hasil yang tidak signifikan didapatkan antara kontrol positif dengan kelompok yang diberi ekstrak air teh hijau 100mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Hasil uji spearman didapatkan koefisien korelasi 0,125 ($p>0,05$). **Kesimpulan:** ekstrak air teh hijau dapat memperbaiki gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin pada dosis 50 mg/kgBB.

Kata kunci: ulkus gaster, ekstrak air, teh hijau, mukosa lambung, kedalaman lesi

ABSTRACT

Sandakh, Shaza N. 2018. *The Effect of Green Tea Aqueous Extract on Gastric Mucosa Histopathology of Rats Induced by Indomethacin*. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes (2) dr. Kenty Wantri Anita, M.Kes, Sp. PA.

Background: Gastric ulcer is defects in the gastric mucosa that extend through the muscularis mucosa which is caused by inflammation. Green tea has been well-known for having many benefits in the medical field. It contains *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG), which is known to have anti-inflammatory effect by inhibition of COX-2 and inflammation mediators such as TNF- α , IL-1 β and IFN- γ . The purpose of this experiment is to investigate the effect of aqueous green tea leaf extract on gastric mucosa histopathology of rats induced by indomethacin. **Methods:** This experiment was conducted with post test only control group design on 25 wistar strain male rats and divided into 5 group, which were negative control group, positive control group and 3 treatment groups. The three treatment groups were induced by indomethacin 30mg/kgBW, and given aqueous green tea extract, at 50mg/kgBW, 100mg/kgBW, and 200mg/kgBW respectively. The lesion depth of gastric mucosa was evaluated with modification of scoring system developed by Sibilialia *et al.* **Results:** a significant difference in gastric mucosa epithelial histopathology after being given green tea aqueous extract (Kruskal Wallis, $p=0.000$). Mann Whitney Test showed a significant difference between the negative control group and the other 4 groups, also between the positive control group and the treatment group at the dose of 50 mg/kgBW aqueous green tea extract ($p < 0.05$). There was no significant difference between the positive control group and the other 2 treatment groups (100 mg/kgBW and 200 mg/kgBW). Spearman correlation test shows the correlation coefficient is 0.125 ($p > 0.05$). **Conclusions:** aqueous green tea extract can repair gastric mucosa epithelial histopathology of rats induced by indomethacin at a dose of 50mg/kgBW.

Keywords: gastric ulcer, green tea, gastric mucosa, lesion depth

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulkus gaster adalah suatu kondisi terjadinya kerusakan jaringan mukosa, sub mukosa hingga lapisan otot lambung yang langsung berhubungan dengan cairan asam atau pepsin yang disebabkan oleh obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS), bakteri *Helicobacter pylori*, merokok, stress dan faktor genetik (Sanusi, 2011). Prevalensinya meningkat pada pria usia lanjut dan kelompok sosial ekonomi rendah (Tarigan, 2009). Kondisi ini pada keadaan yang serius, merupakan salah satu alasan tersering dilakukannya operasi gastrointestinal. Hal ini terkait dengan tingginya prevalensi morbiditas dan mortalitas (O'Malley, 2003).

OAINS merupakan obat antiinflamasi dengan mekanisme kerja menghambat enzim siklooksigenase (COX). Enzim ini berperan dalam jalur sintesis prostaglandin. Terdapat dua bentuk COX, COX 1 dan COX 2. COX 1 merupakan sumber prostanoide untuk sitoproteksi epitel gaster dan hemostasis. Sebaliknya, COX 2 yang diinduksi oleh sitokin merupakan sumber pembentukan prostanoide yang berperan dalam inflamasi. (Brunton *et al*, 2011).

Salah satu prototipenya adalah indometasin yang bekerja dengan menghambat COX 1 dan COX 2, tetapi dianggap lebih efektif menghambat COX 1. Penghambatan COX 1 menyebabkan hilangnya sumber prostaglandin yang berfungsi memproteksi gaster sehingga terjadi kerusakan mukosa lambung yang jika dibiarkan akan menjadi ulkus gaster (Indraswari, Kalsum & Sudjari, 2004).

Tanaman obat tradisional yang banyak tumbuh di wilayah Indonesia dapat dijadikan alternatif obat (Djam'an, 2008). Salah satunya adalah teh hijau (*Camelia sinensis*) yang berasal dari Cina (Anindita *et al*, 2012). Tanaman ini memiliki banyak manfaat dalam dunia kesehatan seperti mampu menghambat proses inflamasi, menurunkan kolesterol darah, membunuh mikroba dan mencegah tekanan darah tinggi serta mengurangi risiko tumor, kanker. Tanaman teh merupakan tanaman dataran tinggi dengan ketinggian tempat tumbuh yang ideal adalah 700 – 1200 meter dari permukaan laut dan produksi pucuk daun teh optimal saat tanaman berumur 7 tahun. Teh hijau dibuat dengan cara menginaktivasi enzim oksidase/fenolase sehingga oksidasi enzimatik terhadap katekin dalam daun teh dapat dicegah (Syah, 2006).

Kandungan teh hijau yang paling utama adalah polifenol katekin yaitu *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin-3-gallate* (ECG) dan *epicatechin* (EC). EGCG merupakan yang terbanyak yaitu 50 – 80% dari jumlah total katekin (Peairs *et al*, 2010). EGCG dalam teh hijau dapat dipergunakan sebagai antiinflamasi. EGCG telah diketahui dapat menghambat ekspresi sitokin proinflamasi dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α). Selain itu, EGCG juga dapat menghambat produksi interleukin-1 β (IL-1 β), interferon- γ (IFN- γ) dan COX-2 (Trompezinski *et al*, 2003). Diharapkan EGCG dalam teh hijau mampu mencegah inflamasi yang terjadi pada lambung dengan mekanisme penghambatan mediator proinflamasi yang dikeluarkan karena lesi induksi indometasin sehingga menghambat inflamasi dan ulkus gaster pun dapat dicegah.

Selain itu, penelitian menggunakan ekstrak air teh hijau pada tikus yang diberikan indometasin belum ada. Penelitian sebelumnya hanya menggunakan EGCG murni saja. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti tentang efek ekstrak air teh hijau terhadap gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak air teh hijau mampu memperbaiki gambaran histopatologi mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek ekstrak air teh hijau terhadap gambaran histopatologi mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui efek kuratif dan dosis terbaik ekstrak air teh hijau terhadap kerusakan mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat menambah ilmu pengetahuan mengenai efek ekstrak air teh hijau terhadap gambaran histopatologi ulkus gaster.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi tentang potensi ekstrak air teh hijau sebagai alternatif terapi ulkus gaster.



BAB 2

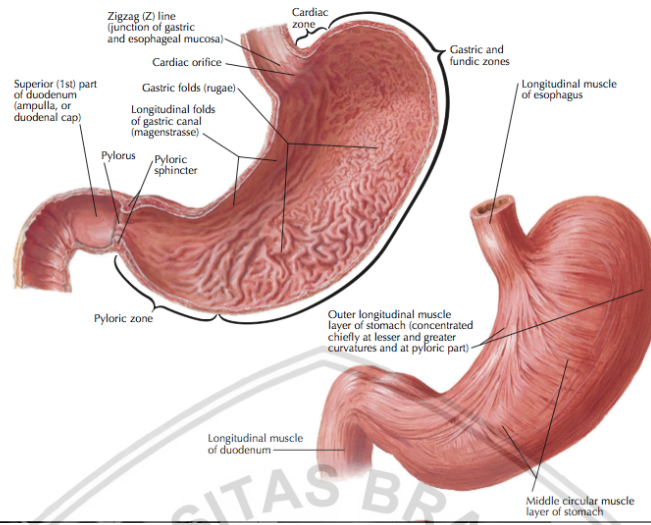
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi dan Fisiologi Lambung

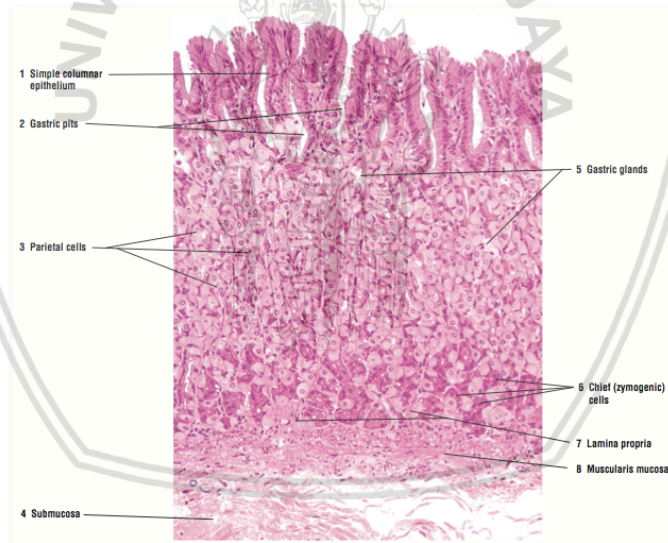
Lambung yang terletak intraperitoneal memiliki bentuk menyerupai huruf J yang mengembang. Lambung memnempati regio hipokondrium kiri, epigaster, umbilikis dan lumbar kiri. Bentuknya yang menyerupai huruf J mengakibatkan lambung memiliki kurva mayor sebagai permukaan lateral dan kurva minor sebagai kurva bagian medial. Lambung terbagi menjadi empat regio yaitu cardia yang menghubungkan lambung dengan esofagus, fundus, tubuh lambung yang terlentang antara fundus dan kurva J dan pilorus yang merupakan kurva J. Terdapat sfingter yang meregulasi pengeluaran kim dari lambung ke duodenum.

Secara histologi, lambung tersusun dari epitel silindris selapis di semua region lambung. Epitel ini tersusun dari lapisan mukosa yang mengsekresi lembaran mukus yang melindungi epitel dari asam dan enzim di lambung.

Lambung memiliki tiga fungsi utama yaitu penyimpanan makanan yang sudah dicerna dalam jumlah besar, penguraian bolus secara mekanik dan pencernaan bolus secara kimiawi melalui ikatan kimiawi oleh asam dan enzim. Pencampuran bahan yang tercerna dengan asam dan enzim yang disekresi oleh kelenjar di lambung menghasilkan campuran yang kental dan asam yang disebut kim (Martini, Timmons & Tallitsch, 2015)



Gambar 2.1 Anatomi Lambung (Netter, 2014)



Gambar 2.2 Gambaran Histopatologi Lambung (Eroschenko, 2013)

2.2 Ulkus Gaster

Ulkus gaster disebabkan oleh ketidakseimbangan antara asam lumen dengan mukus. Lapisan mukus ini mengeluarkan senyawa bikarbonat yang mempertahankan pH 7. Prostaglandin dan aliran darah kapiler yang baik merupakan faktor penting untuk mukus dan sekresi bikarbonat. Oleh karena itu, OAINS dan

merokok merupakan faktor risiko ulkus. Ulkus gaster lebih jarang ditemui pada negara maju karena berkembangnya pemberantasan *H. pylori* pada negara maju.

Gejala umumnya berupa dispepsia yaitu nyeri pada epigaster, kembung, sering diiringi oleh nausea. Biasanya pasien mengeluh rasa nyeri sekali atau terbakar yang biasanya terjadi sesudah setelah makan diiringi dengan penurunan nafsu makan sehingga biasanya penderita ulkus gaster juga akan mengalami penurunan berat badan (Sitaraman & Friedman, 2012).

Secara umum ulkus gaster bukan penyakit fatal. Kebanyakan penderita dapat hidup bertahun – tahun dengan ulkusnya dan tidak pernah mengalami gejala selain ketidaknyamanan yang sudah disebutkan diatas, begitu pula dengan sakit yang dialami pasien dapat diatasi dengan obat – obatan. Akan tetapi, komplikasi yang dapat mengancam nyawa dapat muncul seperti perforasi dan pendarahan yang dapat mengakibatkan obstruksi (Smith, 2011).

2.2.1 Tata Laksana Ulkus Gaster

Ulkus gaster dapat ditangani dengan agen antisekresi, yang merupakan obat lini pertama ulkus peptikum, diberikan 8 – 12 minggu. Golongan agen antisekresi dapat dibagi menjadi dua yaitu H₂ antagonist dan PPIs (*proton – pump inhibitors*). H₂ antagonis memblok reseptor H₂ di sel parietal lambung, diberikan satu dosis pada malam hari sedangkan PPIs mengikat secara kovalen dan ireversibel dengan pompa hidrogen potassium di sel parietal lambung. Selain itu juga terdapat obat yang bekerja untuk melindungi mukus seperti golongan sukralfat, misoprostol dan antasida. Lalu disarankan juga untuk menghentikan penggunaan OAINS. Jika

memang dibutuhkan OAINS maka dapat diberikan profilaksis PPI atau pemberian obat alternatif berupa inhibitor siklooksigenase-2 (COX-2). Bagi penderita ulkus peptikum yang disebabkan oleh *Helicobacter pylori* maka dapat dilakukan eradikasi bakteri menggunakan kombinasi empat obat selama sepuluh sampai empat belas hari (Sitaraman & Friedman, 2012).

2.3 Inflamasi

Inflamasi atau radang merupakan respons dari sistem kekebalan tubuh melawan suatu penyakit, berfungsi menghancurkan, mengurangi, serta melokalisasi agen pencedera maupun jaringan yang cedera (Rustam et al, 2007). Rangsangan dari agen pencedera ini menyebabkan lepasnya mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin, dan prostaglandin yang menimbulkan reaksi radang berupa panas, nyeri, merah, bengkak, dan disertai gangguan fungsi. Kerusakan sel yang terkait dengan inflamasi berpengaruh pada selaput membran sel yang menyebabkan leukosit mengeluarkan enzim-enzim lisosomal dan asam arakhidonat. Metabolisme asam arakhidonat menghasilkan prostaglandin-prostaglandin yang mempunyai efek pada pembuluh darah, ujung saraf, dan pada sel-sel yang terlibat dalam inflamasi (Katzung, 2004).

Reaksi inflamasi bermula dari dikenalnya agen pencedera yang berada diluar pembuluh darah. Kemudian, leukosit dan protein plasma dari sirkulasi akan ditarik ke area agen pencedera. Leukosit dan protein akan aktif dan bekerja sama untuk menghancurkan agen pencedera. Setelah itu reaksi inflamasi akan mereda dan proses perbaikan jaringan dimulai (Kumar, Abbas & Aster, 2015).

2.3.1 Inflamasi Akut

Inflamasi akut berlangsung singkat dengan mengirim leukosit dan plasma protein ke tempat terjadinya jejas. Leukosit akan mengeliminasi agen perusak dan memulai proses penghancuran serta menghilangkan jaringan nekrosis (Kumar, Abbas, Aster, 2013). Ciri peradangan akut meliputi edema, kemerahan, panas, dan nyeri. Pada proses radang akut disebabkan oleh pelepasan berbagai macam mediator kimia, seperti produk leukosit, protease plasma, amina vasoaktif, dan metabolit asam arakhidonat (Rustam et al, 2007).

Secara garis besar, inflamasi akut terdiri dari dua komponen yaitu vaskular dan seluler. Perubahan vaskular berupa vasodilatasi dan meningkatnya permeabilitas vaskular yang membuat protein plasma dapat keluar dari pembuluh darah. Selain itu, sel endotelial menjadi aktif sehingga meningkatnya adhesi leukosit dan migrasi leukosit melalui pembuluh darah. Selanjutnya, pada tahap seluler terjadi emigrasi leukosit dari sirkulasi dan berakumulasi di lokasi jejas diikuti dengan aktivasi leukosit sehingga agen perusak hancur. Leukosit utama dalam inflamasi akut adalah neutrofil (Kumar et al, 2013)

2.3.2 Inflamasi Kronik

Inflamasi Kronik berlangsung lebih dari dua minggu. Tujuan dari inflamasi kronik untuk menghilangkan benda asing atau agen perusak yang tidak dapat dieliminasi inflamasi akut. Akan tetapi, inflamasi kronik dapat terjadi tanpa melalui

proses akut seperti di pada beberapa penyakit autoimun. Inflamasi kronik ditandai dengan infiltrasi sel mononuklear (makrofag, limfosit dan sel plasma), destruksi jaringan dan ketidakmampuan jaringan untuk sembuh. Makrofag menuju area jejas melalui agen kemotatik yang sudah dilepaskan sebelumnya oleh neutrofil dan limfosit. Sesampainya makrofag di area jejas, makrofag akan mengeluarkan kemokin untuk merekrut monosit dari pembuluh darah. Makrofag berperan penting dalam destruksi jaringan. Destruksi jaringan disebabkan oleh senyawa kimia yang dilepaskan oleh sel – sel yang bertugas mengeliminasi agen perusak. Inflamasi kronik membutuhkan perbaikan jaringan seperti fibroblast (sel jaringan penghubung yang belum matang yang dapat berdiferensiasi menjadi sel yang memproduksi kolagen dan jaringan lain) dan pembentukan pembuluh darah. Proses inflamasi kronik akan berhenti saat semua agen yang menyebabkannya tereliminasi (DeLong & Burkhart, 2013).

2.4 Mediator Inflamasi

Mediator inflamasi adalah substansi kimia yang berperan pada pembuluh darah dan atau sel untuk berkontribusi dalam respons inflamasi. Mediator inflamasi dapat diklasifikasi melalui beberapa aspek. Dari segi sumber, mediator inflamasi dapat dibagi menjadi dua yaitu mediator inflamasi eksogen dan endogen (Larsen & Henson, 1983).

Mediator inflamasi endogen berasal dari dalam bagian tubuh yaitu plasma, leukosit dan jaringan sekitar. Beberapa mediator yang termasuk dalam mediator endogen adalah histamin, serotonin, sistem kinin dan sistem komplemen. Mediator

inflamasi eksogen diproduksi diluar tubuh. Mediator yang sering ditemukan dari bakteri gram negatif adalah endotoksin. (Majno & Joris, 2004).

Histamin telah diketahui secara luas histamin merupakan mediator kimiawi pada radang akut. Histamin mengakibatkan dilatasi vaskuler dan naiknya permeabilitas vaskuler. Histamin disimpan dalam sel mast, basofil, eosinofil dan trombosit. Histamin dilepaskan dari tempat-tempat tersebut (misalnya degranulasi sel mast) karena dirangsang oleh komplemen C3a dan C5a, sereta oleh protein lisosom yang dilepas oleh neutrofil (Mitchell et al, 2016)

Lisosom dilepas dari neutrofil, termasuk protein kationik, yang dapat meningkatkan permeabilitas vaskuler dan protease netral yang dapat mengaktifkan komplemen (Mitchell et al, 2016)

Prostaglandin disintesis saat asam arakidonat terlepas dari membrane plasma oleh fosfolipase dan dimetabolisasi oleh siklooksigenase. Terdapat empat jenis bioaktif prostaglandin yaitu prostaglandin E₂ (PGE₂), prostasiklin (PGI₂), prostaglandin D₂ (PGD₂) dan prostaglandin F_{2a} (PGF_{2a}). PGE₂ merupakan prostaglandin yang paling menonjol dalam proses inflamasi. Kemerahan dan edema merupakan hasil peningkatan aliran darah menuju jaringan inflamasi yang dimediasi oleh PGE₂ dengan meningkatnya dilatasi arteri dan permeabilitas mikrovaskular (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

Leukotrien juga disintesis dari asam arakhidonat, terutama dalam neutrofil dan memiliki kemampuan vasoaktif. 5-hidroksitriptamin (serotonin) ditemukan dalam konsentrasi yang tinggi dalam sel mast dan trombosit. Serotonin merupakan bahan vasokonstriktor yang kuat (Mitchell et al, 2016)

Sitokin merupakan keluarga dari *chemical messenger* yang dilepas oleh limfosit. Selain peranan utamanya dalam hipersensitivitas tipe IV, sitokin juga mempunyaimempunyai kemampuan vasoaktif atau kemotaksis (Mitchel et al, 2016)

Sistem kinin merupakan peptide dari 9-11 asam amino. Faktor permeabilitas vaskuler yang paling penting adalah bradikinin. Sistem kinin diaktifkan oleh factor koagulasi XII. Bradikinin juga merupakan mediator kimiawi dari rasa sakit yang merupakan salahsatu tanda kardinal radang akut (Mitchell, 2016).

Tumor necrosis factor (TNF) merupakan salah satu sitokin. TNF dikeluarkan oleh makrofag dan sel T. TNF memiliki beberapa sel target yaitu sel endotelial, neutrofil, hipotalamus, otot dan lemak dan sel – sel lainnya. TNF berfungsi untuk aktivasi neutrofil, menyebabkan demam, katabolisme pada otot dan lemak, apoptosis pada berbagai sel dan aktivasi sel endotelial (Abbas, Lichtman, Pillai, 2015).

Interleukin merupakan protein yang penting dalam proliferasi protein. IL-1 diproduksi oleh makrofag dan menginduksi produksi IL-2 oleh sel T yang terstimulasi antigen. IL-2 menstimulasi proliferasi sel T dengan reseptor spesifik untuk IL-2, juga menginduksi produksi interferon dan digunakan sebagai obat anti kanker. IL-3 penting untuk diferensiasi sel T supresor. IL-1 β ditemukan dalam proses nyeri dan inflamasi dalam tingkat sentral dan perifer. IL-1 β memiliki mekanisme sebagai fasilitator aktivitas sinaps dan transmisi nyeri, serta memiliki kontribusi dalam perkembangan nyeri kronik (Ren & Torres, 2009).

Nitrit oksida (NO) adalah senyawa humoral yang berpengaruh pada aktivitas *endotheli- derived relaxing factor* (EDRF) dan berfungsi sebagai vasodilator dengan

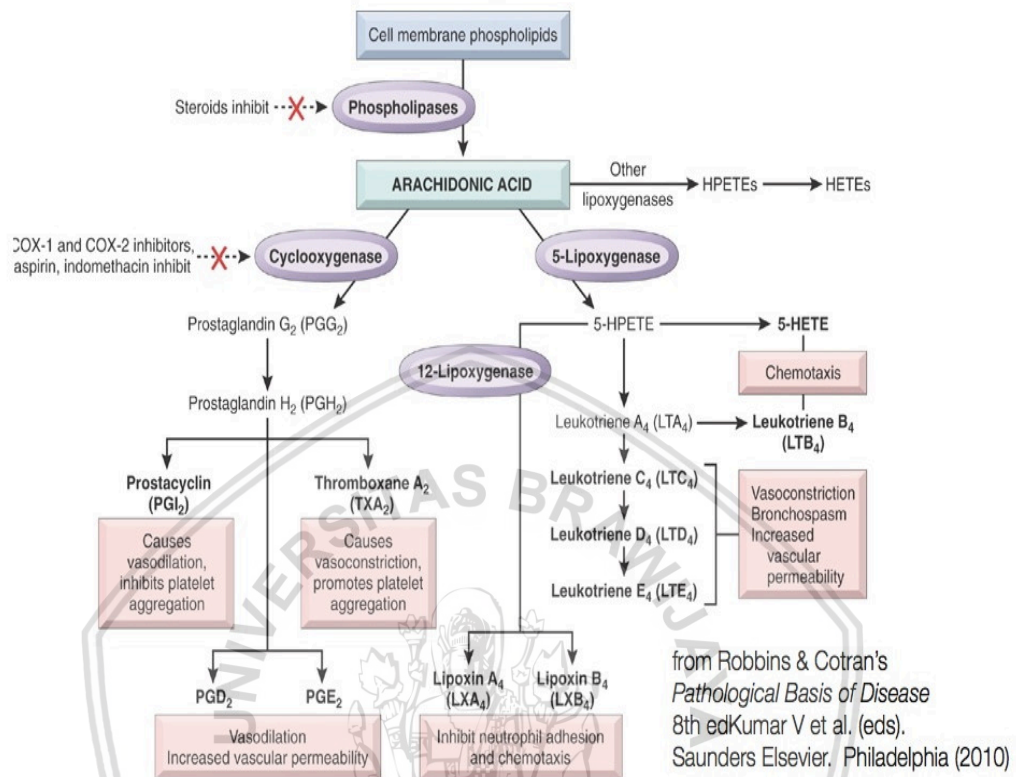
cara merelaksasi otot polos via stimulasi guanilat siklase (Moncada *et al*,1989). NO disekresi dari sel endotel vaskular sebagai respon terhadap berbagai senyawa seperti bradikinin (Palmer *et al*, 1987). NO juga disekresi oleh makrofag yang teraktivasi oleh lipopolisakarida dan sitokin (Hibbs *et al*, 1990). NO terbentuk di tempat terjadinya inflamasi dan memodulasi edema dengan meningkatnya aliran darah setempat (Ialenti *et al*,1992).

2.5. Cyclooxygenase (COX)

Cyclooxygenase (COX) merupakan enzim protein yang memiliki fungsi pembuatan tromboksan dan prostaglan dari asam arakidonat. Bentuk dari COX yaitu COX 1 yang penting untuk mempertahankan homeostasis dan COX 2 yang diekspresikan oleh leukosit sebagai respons dari stimulus inflamasi yang menghasilkan produksi prostanoid. Sebagai tambahan, induksi COX 2 di lesi inflamasi dapat ditemukan juga di otak dan medula spinalis yang berperan dalam transmisi saraf khususnya untuk rasa nyeri dan demam. Prostaglandin yang diproduksi oleh COX 2 juga penting dalam ovulasi dan proses melahirkan. Secara struktur, COX 1 dan COX 2 hampir indentik namun memiliki perbedaan penting dalam substrat dan inhibitor selektivitas. Protektif prostaglandin yang mempertahankan integritas permukaan lambung dan mempertahankan fungsi normal ginjal disintesis oleh COX 1. Aktifitas COX dapat dihambat oleh OAINS, aspirin dan kortikosteroid. Selain itu, terdapat pula bentukan COX yang paling baru ditemukan yaitu COX 3. Fungsi dari COX 3 sampai sekarang masih dipelajari.

Dengan ditemukannya COX 2 maka terbentuklah obat yang dapat mengurangi inflamasi tanpa menghilangkan prostaglandin protektif di lambung maupun ginjal oleh COX 1. Obat selektif inhibitor COX 2 tidak hanya berperan sebagai antiinflamasi tapi juga dapat aktif untuk kanker kolonrektal dan penyakit alzheimer. Perkembangan tumor di berbagai jaringan seingkali berkaitan dengan overekspresi dari COX 2. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan aktifitas COX 2 dapat menjadi kejadian awal dari karsinogenesis (Schwab, 2011).

Asam arakidonat yang diproduksi oleh fosfolipase pada membran sel fosfolipid merupakan substrat untuk sintesis oleh COX. COX mengatalisir sintesis prostaglandin (PG) melalui 2 langkah. Pertama, terjadi de-oksigenase yang meng-oksigenase asam arakidonat menjadi PGG₂. Lalu, terjadi aktivitas peroksidase yang mengatalisir reduksi PGG₂ menjadi PGH₂. PGH₂ merupakan prekursor dari PGD₂, PGE₂, PGF₂α, PGI₂, dan tromboksan A₂ (TXA₂). Prostaglandin merupakan mediator yang penting untuk inflamasi, salah satunya berperan penting dalam perlindungan mukosa lambung dan pengaturan homeostasis renal (Gorski *et al*, 2001).



Gambar 2.3 Jalur Metabolisme Asam Arakidonat (Robbins & Cotran's, 2010)

2.6 Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS)

OAINS merupakan obat pereda nyeri yang paling banyak digunakan seperti aspirin dan ibuprofen. Aspirin juga digunakan secara luas untuk mencegah pembentukan bekuan darah pada orang yang berisiko mengalami penyakit kardiovaskular. Karena OAINS bekerja dengan cepat, maka OAINS sering digunakan untuk meredakan nyeri akut. (Bull & Archard, 2007).

Prostaglandin dilepaskan saat terjadi kerusakan sel dan OAINS menghambat biosintesis prostaglandin. Obat – obat tersebut tidak menghambat pembentukan

mediator inflamasi lain atau leukotrien. Enzim pertama dalam jalur pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat adalah siklooksigenase (COX). Dosis terapeutik OAINS menurunkan biosintesis prostaglandin dengan menghambat COX dan terdapat korelasi antara potensi sebagai penghambat COX dan aktivitas antiinflamasi (Brunton *et al*, 2008).

Efek samping yang terjadi terutama berhubungan dengan saluran pencernaan karena didasari oleh hambatan pada sistem biosintesis Prostaglandin. Gangguan yang dapat terjadi meliputi anoreksia, mual, dispepsia, nyeri abdominal dan anemia akibat perdarahan saluran cerna. Gejala – gejala tersebut terkait dengan ulkus gaster atau ulkus duodeni dan dapat dikurangi dengan obat selektif COX 2 (Brunton *et al*, 2011).

Aspirin merupakan obat OAINS yang termasuk dalam kategori asam salisilat. Penggunaan aspirin sekarang ini jarang digunakan sebagai medikasi antiinflamasi tetapi lebih ditujukan sebagai antiplatelet. Aspirin diserap dan dihidrolisis dengan cepat oleh jaringan dan otot. Obat golongan ini menghambat COX platelet. Dalam klinis, aspirin mengurangi insidens serangan jantung, ketidakstabilan angina, trombosis arteri koroner dan trombosis setelah pemasangan *bypass* arteri koroner. Efek sampingnya berupa ulkus gaster, ulkus peptikum, hepatotoksitas, asma, perdarahan pada jalur pencernaan.

Contoh obat dari golongan nonasetil salisilat adalah kolin salisilat, sodium salisilat dan salisil salisilat. Obat golongan ini efektif sebagai antiinflamasi namun kurang efektif sebagai analgesik jika dibandingkan dengan aspirin. Obat golongan ini

dapat digunakan pada penderita asma dan disfungsi renal (dengan supervisi yang ketat) (Katzung *et al*, 2015).

Inhibitor selektif COX 2 merupakan obat yang menghambat sintesis prostaglandin dengan menghambat COX 2 yang menginduksi inflamasi tanpa menghambat COX 1. Obat ini juga menghambat sintesis prostasiklin yang dimediasi oleh COX 2 di endotel vaskular sehingga obat ini tidak memberikan efek protektif pada kardio seperti OAINS yang tidak selektif lainnya. Efek sampingnya berupa toksitas pada ginjal (Katzung *et al*, 2015).

Diklofenak merupakan derivat dari asam fenilasetat yang tidak selektif. Ulserasi gastrointestinal terjadi lebih sedikit dibandingkan OAINS lainnya. Obat ini dapat menyebabkan gangguan pada aliran darah renah dan filtrasi glomerulus. Elevasi serum aminotransferase lebih sering terjadi dibandingkan OAINS lainnya. Obat ini sering digunakan untuk prevensi inflamasi mata paskaoperasi dan bisa digunakan setelah implantasi lensa intraokular. Selain itu obat ini sering digunakan pada suppositori rektal sebagai analgesik dan muntah paskaoperasi (Katzung *et al*, 2015).

Golongan asam propionat seperti ibuprofen, fenbufen dan naproksen telah banyak digunakan sebagai obat pilihan pertama untuk penyakit inflamasi sendi karena obat – obat tersebut mempunyai insidensi efek samping paling rendah (Neal, 2006). Obat – obat dalam kelompok ini tinggi berikatan dengan protein sehingga dapat terjadi interaksi obat terutama jika diberikan bersamaan dengan obat lain yang tinggi berikatan dengan protein. Rasa tidak nyaman di lambung juga terjadi tapi tidak seberat dengan OAINS lainnya (Kee & Hayes, 1996).

Indometasin merupakan golongan dari asam para – klorobenzoat. Obat ini dipakai untuk rematik, gout dan osteoarthritis dan merupakan penghambat prostaglandin yang kuat. Obat ini tinggi berikatan dengan protein dan mengambil alih obat lain yang berikatan dengan protein sehingga dapat menimbulkan toksisitas. Obat ini memiliki waktu paruh yang sedang dan sangat mengiritasi lambung sehingga harus dimakan sewaktu makan atau bersama – sama makanan (Kee & Hayes, 1996).

Kelompok fenamat meliputi NSAID yang dipakai untuk keadaan arthritis akut dan kronik. Seperti kebanyakan NSAID, iritasi lambung merupakan efek samping yang sering pada fenamat dan penderita dengan riwayat tukak peptik harus menghindari pemakaian obat – obat dari kelompok ini. Efek samping lain adalah edema, pusing, tinitus dan pruritus (Kee & Hayes, 1996).

Oxicam derivat adalah asam enolat yang menginhibisi COX 1 dan COX 2 yang memiliki efek antiinflamasi, analgesik dan antipiretik. Secara umum golongan ini merupakan inhibitor non selektif kecuali meloxicam yang cenderung lebih selektif terhadap COX 2. Keunggulan dari golongan ini yaitu memiliki waktu paruh yang lebih panjang sehingga bisa diminum sehari sekali. Contoh obat dari golongan ini adalah piroxicam dan meloxicam (Katzung *et al*, 2015). Biasanya diindikasikan untuk keadaan arthritis yang lama seperti rematoid dan osteoarthritis. Obat ini juga menimbulkan masalah lambung seperti tukak dan rasa tidak enak pada epigastrium tetapi kejadiannya lebih jarang daripada beberapa OAINS yang lain (Kee & Hayes, 1996).

2.7 Teh Hijau (*Camellia sinensis*)



Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Theales
Famili	: Theaceae
Genus	: Camellia
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i>

Gambar 2.4 Daun Teh
(Soraya, 2007)

Camellia sinensis adalah pohon atau semak yang hijau sepanjang tahun. Tanaman teh bisa tumbuh tinggi hingga 10 – 15 meter di alam bebas dan 0,6 – 1,5 meter di perkebunan. Daunnya bertangkai pendek, hijau muda, ujung yang meruncing seperti pisau bedah dengan tepi bergigi, mudah dicabut dan memiliki panjang 5 – 30 cm dan lebar 4 cm. Dan teh yang sudah siap panen berwarna hijau terang, halus dan tidak rapuh. Bunganya berwarna putih, harum, berdiameter 2,5 – 4 cm, memiliki kelopak bunga dua sampai empat (Ross, 2005). Pohon teh mempunyai akar tunggang yang panjang dengan percabangan yang banyak. Selain berfungsi sebagai penyerap air dan hara, akar tanaman teh juga berfungsi sebagai organ penyimpanan cadangan makanan (Muljana, 1993).

Tanaman teh membutuhkan iklim yang lembab dan tumbuh baik pada temperatur yang berkisar antara 10 – 30° C pada daerah dengan curah hujan 2.000

mm per tahun dengan ketinggian 600 – 2000 m dpl. Tanaman teh di perkebunan ditanam secara berbaris dengan jarak tanam satu meter. Tanaman teh tumbuh lurus dan banyak akan tetapi batangnya memiliki ukuran yang lebih kecil (Setyamidjaja, 2000).

Produk teh yang dikonsumsi terbesar dan terpopuler di Indonesia adalah teh hitam. Namun, seiring dengan perkembangan pangan pasar, teh hijau pun kini menjadi produk unggulan dengan berbagai kelebihan yang dimiliki. Teh hijau adalah teh yang dibuat dengan cara menginaktivasi enzim oksidase dan fenolase yang ada dalam pucuk daun teh segar, yakni dengan cara pemanasan atau penguapan menggunakan uap panas. Pada pembuatan teh hijau, proses oksidase enzimatik terhadap katekin dapat dicegah (Soraya, 2007).

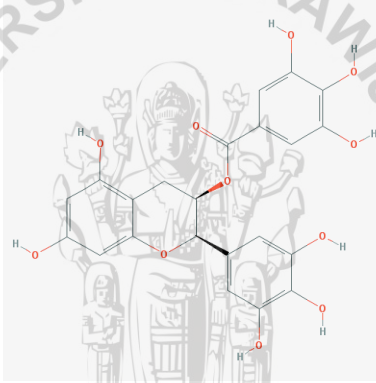
Bahan – bahan kimia dalam teh dibagi menjadi empat kelompok besar yaitu substansi fenol, substansi bukan fenol, Substansi aromatik dan enzim. Substansi fenol dalam teh yang dominan adalah polifenol. Turunannya seperti epikatekin (EC), epikatekin galat (ECG), epigalokatekin (EGC), dan epigalokatekin galat (EGCG) sangat bermanfaat untuk kesehatan.

Konsentrasi polifenol total dalam daun teh hijau kering biasanya 8 – 12%. Kadungan lain dalam daun teh hijau adalah kafein 3,5%, asam amino yaitu theanin 4%, lignan 6,5%, asam organik 1,5%, protein 15% dan klorofil 0,5%. Satu cangkir teh hijau mengandung sekita 300 sampai 400 mg polifenol namun hanya 8 – 12% dari satu cangkir adalah polifenol dan terdapat porsi yang lebih kecil lagi dari polifenol *epigallocatechin gallate* (Hoffman, 2013).

Tabel 2.1 Kandungan Kimia dalam 100 Gram Teh (Wilson *et al*, 2012)

No.	Komponen	Jumlah
1	Kalori	17 kJ
2	Air	75 – 80 %
3	Polifenol	25%
4	Karbohidrat	4%
5	Serat	27%
6	Pektin	6%
7	Protein	20%
8	Kafein	2,5 – 4,5%

2.7.1 Epigallocatechin gallate

**Gambar 2.5 Epigallocatechin gallate (www. pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)**

Epigallocatechin gallate (EGCG) merupakan komponen aktif utama dari teh hijau. Pucuk daun teh hijau mengandung EGCG terbanyak dibandingkan daun teh yang lain (Hoffman, 2013). Menurut penelitian Sevilano (2013), EGCG dapat larut dalam etanol dan air. Berbeda dengan polifenol pada umumnya, EGCG sangat mudah larut dalam air (Shutava *et al*, 2009).

EGCG memiliki efek sebagai antiinflamasi. Pada penelitian yang telah dilakukan, EGCG dapat mereduksi respon inflamasi jejas jaringan setempat seperti nekrosis hepatoselular di jejas akut liver yang diinduksi oleh karbon

tetraklorid. Hal ini berkaitan dengan efek EGCG yang bisa menghambat overproduksi sitokin dan mediator inflamasi. Selain itu, EGCG juga menurunkan aktivitas NF-kappaB dan AP – 1 dan pembentukan peroxynitrit dengan NO dan spesies reaktif oksigen (Tipoe *et al*, 2007). Dalam penelitian lainnya, EGCG terbukti sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan dalam sel epitel kornea manusia yang sudah diberi interleukin-1 β selama 18 jam sehingga dari penelitian ini EGCG memiliki potensi terapi pada inflamasi mata seperti mata kering (Cavet *et al*, 2011).

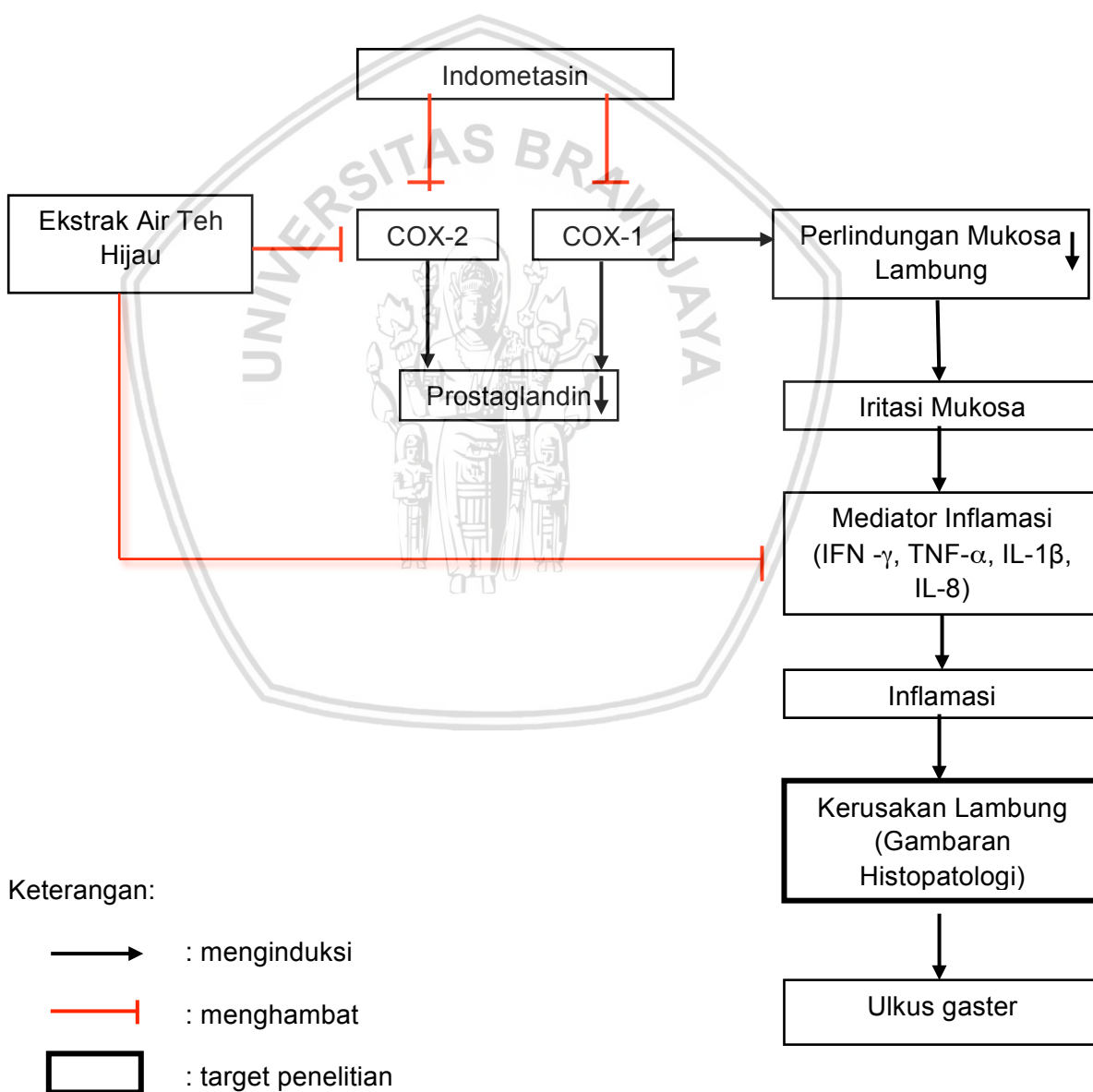
Menurut Min dan Kwon (2014), EGCG menghambat aktifitas karsinogen, tumorigenesis, proliferasi, angiogenesis dan menginduksi kematian sel. Hal ini berkaitan dengan modulasi produksi spesies reaktif oksigen. EGCG menginhibisi pertumbuhan sel melalui faktor nuklear kB sehingga terjadi inhibisi migrasi, angiogenesis dan kelangsungan hidup sel. Selain itu, EGCG juga menginduksi modifikasi epigenetik dengan menginhibisi aktivitas DNA metiltransferase dan regulasi asetilasi di histon sehingga meningkatkan apoptosis.

Selain itu, EGCG masih memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Penelitian membuktikan bahwa EGCG dan senyawa flavonoid lainnya dapat menjaga fungsi mitokondria sara pada penderita alzheimer (Dragiveric *et al*, 2011). EGCG dapat memperbaiki resistensi insulin dan meningkatkan *glucagon – like peptide* (Liu *et al*, 2014). Menurut Erchlich (2015), EGCG dapat membantu beberapa masalah kesehatan seperti artherosclerosis, tinggi kolesterol, penyakit liver dan dapat menurunkan berat badan.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Mekanisme indometasin sebagai anti nyeri adalah menghambat enzim COX-1 dan COX-2 secara non selektif sehingga prostaglandin proinflamasi maupun prostaglandin homeostasis tidak diproduksi. COX-1 yang dihambat oleh indometasin memiliki fungsi untuk melindungi mukosa lambung. Apabila COX-1 menurun, maka fungsi perlindungan pada mukosa lambung juga ikut menurun sehingga mukosa lambung mudah teriritasi oleh asam lambung. Iritasi mukosa lambung akan memicu produksi mediator inflamasi seperti IFN γ , TNF- α , IL-1 β , IL-8 untuk membantu proses inflamasi. Inflamasi pada akhirnya akan menyebabkan kerusakan jaringan mukosa yaitu ulkus peptikum.

Epigallocatechin gallate yang merupakan komponen aktif utama dari ekstrak teh hijau memiliki mekanisme untuk menghambat COX-2 dan mediator inflamasi sehingga proses inflamasi tidak terjadi. Target penelitian ini adalah melihat gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus yang teriritasi karena pemberian indometasin.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak air teh hijau dapat memperbaiki gambaran histopatologi kerusakan mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan untuk penelitian ini adalah *Post Test-Only, Control Group Design*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak teh hijau terhadap gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar.

4.2.2 Sampel Penelitian

Penentuan sampel berdasarkan rumus Federer $(t - 1) (r - 1) \geq 15$ dimana t = jumlah perlakuan dan r = jumlah replikasi (Maryanto dan Fatimah, 2004). Dari sejumlah sampel ini akan diuji dengan level signifikansi 95%.

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(5 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$4 (r - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) \geq 3,75$$

$$r \geq 4,75 \approx r \geq 5$$

Dari hasil perhitungan diatas, dibutuhkan jumlah sampel sebanyak 5 ekor pada tiap kelompok perlakuan sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan adalah 25 ekor dengan rincian sebagai berikut:

- a. Kelompok 1 (K-) : Tikus kontrol yang tidak diberi perlakuan apapun
- b. Kelompok 2 (K+) : Tikus yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB
- c. Kelompok 3 (P1) : Tikus yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB dan diberi ekstrak air teh hijau 50 mg/kgBB sehari sekali selama tiga hari
- d. Kelompok 4 (P2) : Tikus yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB dan diberi ekstrak air teh hijau 100 mg/kgBB sehari sekali selama tiga hari
- e. Kelompok 5 (P3) : Tikus yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB dan diberi ekstrak air teh hijau 200 mg/kgBB sehari sekali selama tiga hari

4.2.3 Kriteria Sampel

4.2.3.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus berjenis kelamin jantan
- b. Umur 2-3 bulan
- c. Berat badan 150-200 gram
- d. Kondisi sehat, aktif, dan tidak ada kelainan anatomik

4.2.3.2 Kriteria Eksklusi

Tikus yang sakit dan mati selama masa perlakuan

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas dari penelitian ini adalah dosis ekstrak teh hijau.

4.3.2 Variabel Terikat (Dependen)

Variabel terikat dari penelitian ini adalah gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Histologi Anatomi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 2 minggu, mulai dari 4 Juni 2018 sampai 15 Juni 2018.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

4.5.1.1 Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Pakan tipe ABS dicampur dengan tepung terigu dan air
- b. Sekam

4.5.1.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba

- a. Indometasin 30 mg/kgBB (Adhikary *et al*, 2011)
- b. Akuades untuk melarutkan indometasin
- c. Simplisia teh hijau
- d. Aquadest untuk ekstraksi teh hijau

4.5.1.3 Bahan untuk Pembuatan Preparat

- a. Lambung tikus
- b. Formalin 10%
- c. Alkohol 80%, 95%, 96%, dan 100%
- d. Alkohol asam
- e. Parafin
- f. *Xylo*
- g. *Counter staining*
- h. *Entellan*
- i. Air
- j. Cat Hematoksilin-Eosin (*Haris Hematoxilen*)

4.5.2 Alat Penelitian

4.5.2.1 Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Kandang tikus berupa kotak plastik yang diisi sekam dan ditutup dengan kawat. Ukuran kandang 15cm x 30 cm x 42 cm, masing masing kandang berisi 5 ekor tikus

- b. Wadah air minum tikus
- c. Spidol untuk memberi identitas pada tikus

4.5.2.2 Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba

- a. Timbangan

4.5.2.3 Alat untuk Pembuatan Ekstrak Air Teh Hijau

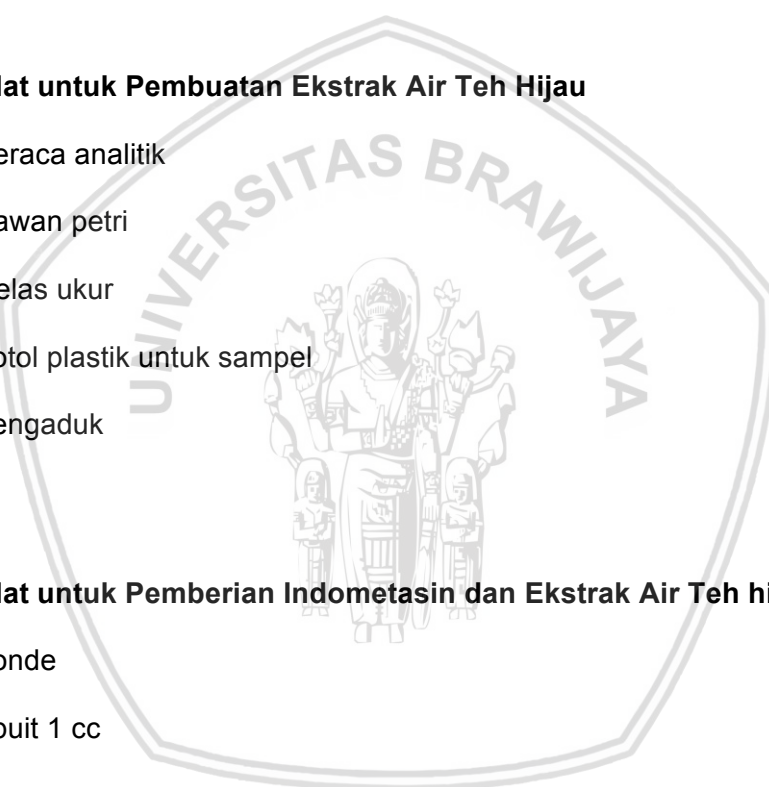
- a. Neraca analitik
- b. Cawan petri
- c. Gelas ukur
- d. Botol plastik untuk sampel
- e. Pengaduk

4.5.2.4 Alat untuk Pemberian Indometasin dan Ekstrak Air Teh hijau

- a. Sonde
- b. Sduit 1 cc

4.5.2.5 Alat untuk Pengambilan Organ Hewan Coba

- a. Handschoen
- b. Papan bedah
- c. Pinset
- d. Pisau bedah (*scalpel*)
- e. Gunting



- f. Jarum
- g. Botol plastik untuk sampel

4.5.2.6 Alat untuk Pembuatan Preparat

- a. *Object glass*
- b. *Cover glass*
- c. *Rotatory microtome*

4.5.2.7 Alat Penilaian Gambaran Histopatologi Mukosa Lambung

- a. Mikroskop cahaya
- b. Kamera digital
- c. Alat tulis

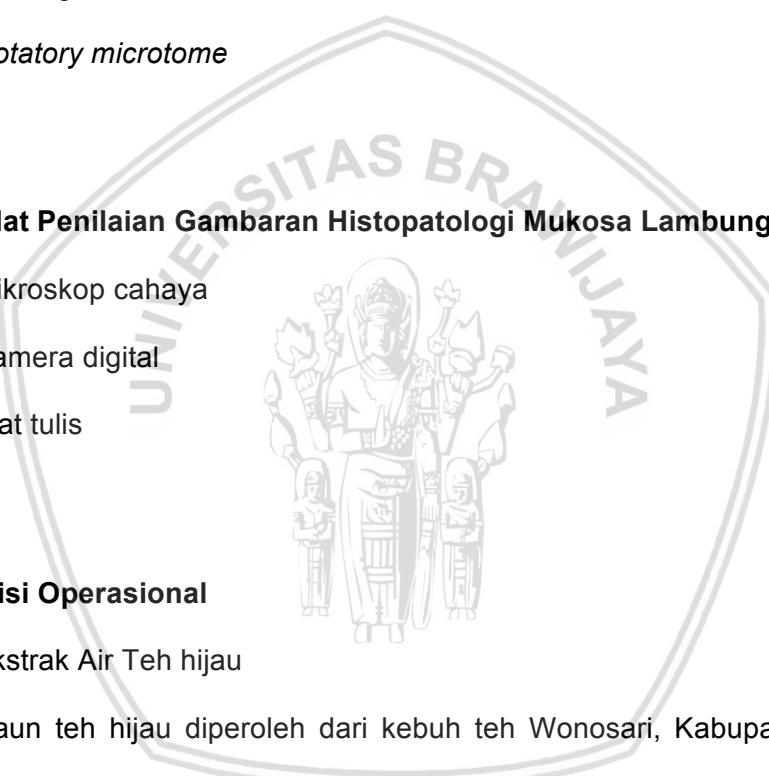
4.6 Definisi Operasional

- a. Ekstrak Air Teh hijau

Daun teh hijau diperoleh dari kebun teh Wonosari, Kabupaten Malang, Jawa Timur, Indonesia. Daun teh direndam dalam aquadest mendidih, lalu ditutup dibiarkan 10 menit di ruang suhu kamar, disaring dan diberikan langsung pada tikus. Dosis yang digunakan sebesar 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB. (Ramadan *et al*, 2009).

- b. Gambaran histopatologis

Pengamatan histopatologis dilakukan dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x pada 5 lapang pandang dengan penilaian kedalaman lesi mukosa menggunakan modifikasi sistem skoring (Sibilia *et al*, 2003)



yaitu skor 0 jika tidak terdapat perubahan patologis, skor 0,5 jika terdapat erosi superfisial, skor 1 jika kedalaman lesi sepertiga mukosa, skor 2 jika kedalaman lesi dua pertiga mukosa, skor 3 jika kedalaman lesi hampir seluruh mukosa.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

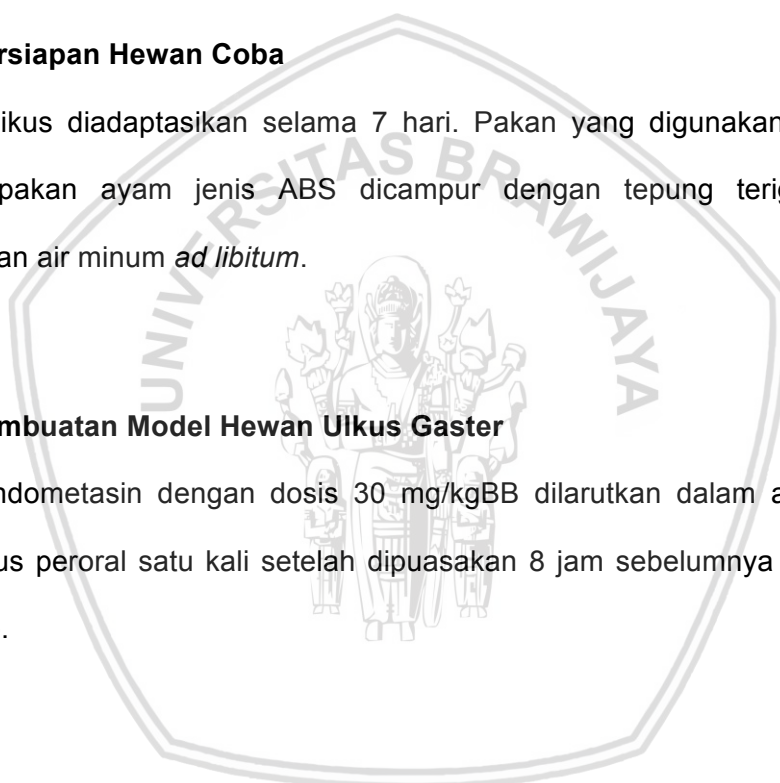
Tikus diadaptasikan selama 7 hari. Pakan yang digunakan untuk tikus adalah pakan ayam jenis ABS dicampur dengan tepung terigu dan air. Pemberian air minum *ad libitum*.

4.7.2 Pembuatan Model Hewan Ulkus Gaster

Indometasin dengan dosis 30 mg/kgBB dilarutkan dalam air, diberikan pada tikus peroral satu kali setelah dipuasakan 8 jam sebelumnya (Adhikary *et al*, 2011).

4.7.3 Pemberian Ekstrak Air Teh Hijau

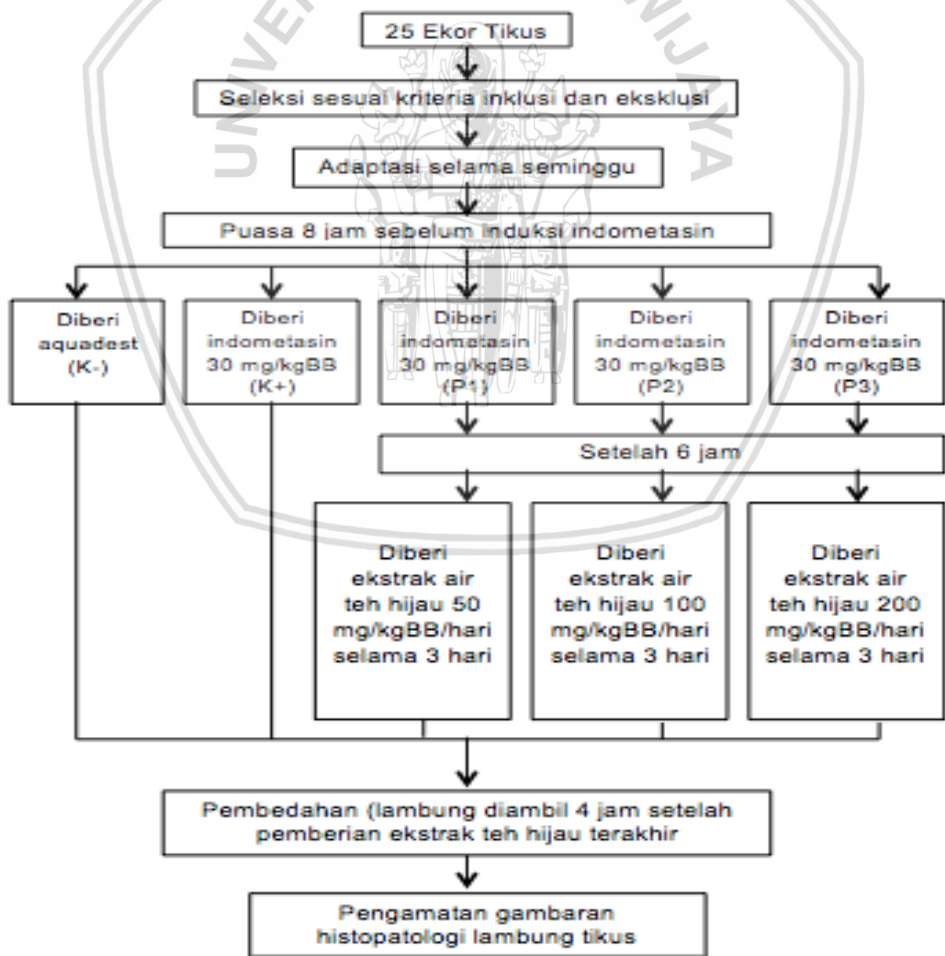
Daun teh hijau dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dimasukan kedalam 0,5 ml aquadest mendidih, ditutup dan didiamkan di suhu ruangan selama 10 menit. Pemberian ekstrak teh hijau dilakukan 6 jam setelah pemberian indometasin sehari sekali selama tiga hari menggunakan sonde. Dosis pertama diberikan 6 jam setelah penginduksian indometasin.



4.7.4 Pengambilan Organ Hewan Coba dan Pembuatan Preparat

Setelah selesai dilakukan perlakuan, tikus dieutanasi dengan cara dislokasi cervical, dibedah dan diambil lambungnya untuk diamati gambaran histopatologi epitel mukosa lambung. Kemudian, lambung difiksasi dalam formalin 10% selama 24 jam, ditanam dalam blok parafin dan dipotong setebal 5 μ m. Pembuatan preparat histopatologi menggunakan pengecatan HE. Dilakukan pemotongan secara melintang pada area yang dipilih (*selective sampling*).

4.7.5 Bagan Alur Penelitian



4.7.6 Metode Pengumpulan Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi eksperimental oleh peneliti. Setelah pembedahan, dilakukan observasi pada slide histo yang dibuat di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pengamatan preparat histologi menggunakan perbesaran total 100x.

4.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan statistik non-parametrik menggunakan Kruskal Wallis. Selanjutnya, dilakukan uji Mann Whitney untuk mengetahui signifikansi hubungan antarkelompok. Selain itu, uji korelasi Spearman dilakukan untuk mengetahui seberapa kuat hubungan antar variabel dan arah korelasi. Analisa data menggunakan program SPSS versi 23 dengan derajat kepercayaan 95% dan $\alpha=0,05$. Uji statistik dinyatakan signifikan apabila $p<0,05$.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

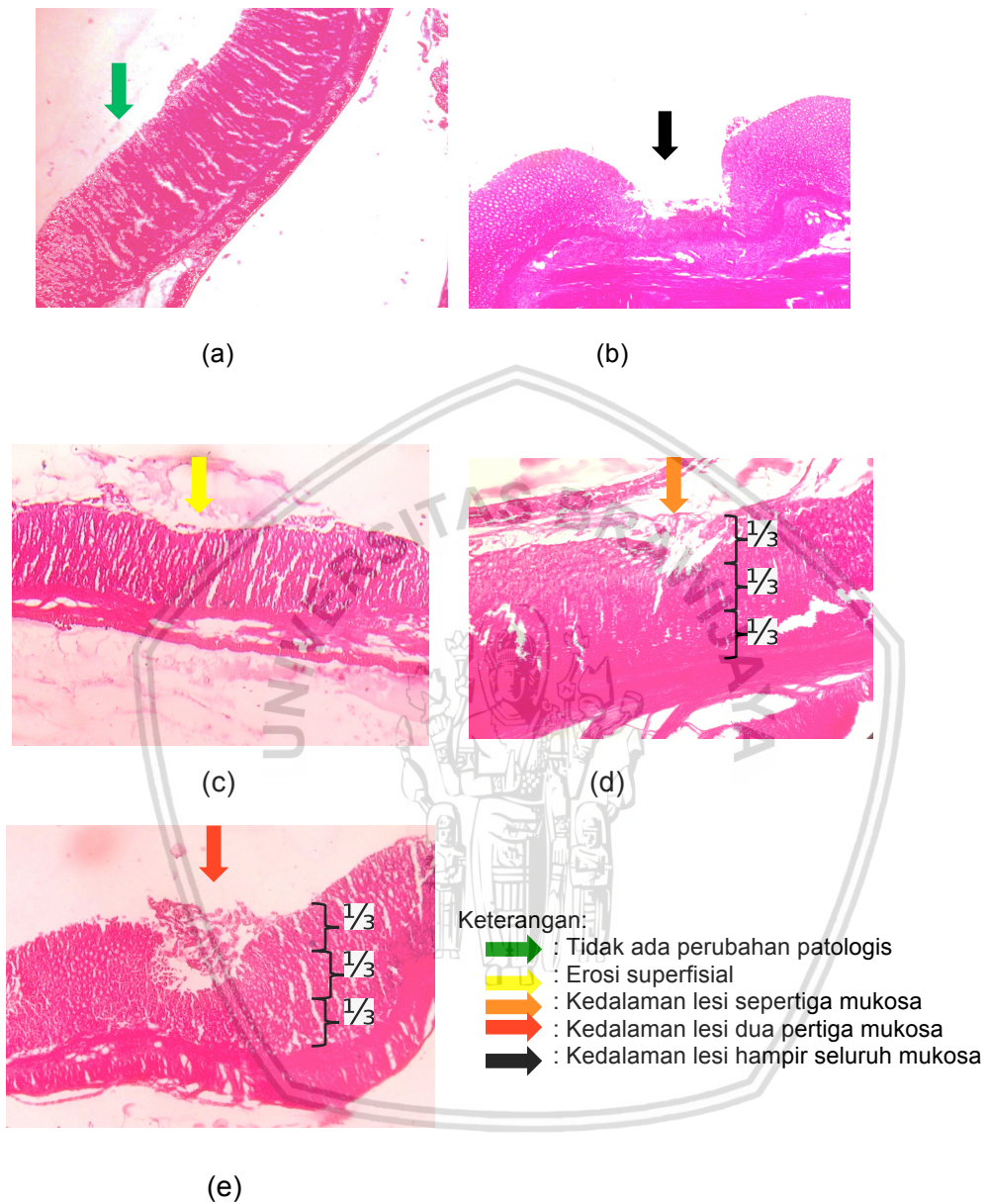
Setelah dilakukan serangkaian penelitian dengan tujuan mengetahui efek ekstrak air teh hijau terhadap gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus model gastritis yang diinduksi indometasin didapatkan hasil sebagai berikut

5.1 Hasil Pengamatan Gambaran Histopatologi Epitel Mukosa Lambung

Pengamatan histopatologi epitel mukosa lambung dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x pada 5 lapang pandang. Kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberi perlakuan apapun sedangkan pada kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) diberi induksi indometasin. Kelompok P1, P2 dan P3 juga diberi ekstrak teh hijau dengan dosis yang berbeda – beda. Penilaian gambaran histopatologi epitel mukosa lambung dengan melihat kedalaman lesi mukosa menggunakan modifikasi sistem skor oleh Sibilia *et al*.

Tabel 5.1 Skor Kedalaman Lesi Mukosa berdasarkan Modifikasi Sistem Skor Oleh Sibilia *et al*

Skor	Kedalaman Lesi
0	Tidak ada perubahan patologis
0,5	Erosi superfisial
1	Kedalaman lesi sepertiga mukosa
2	Kedalaman lesi dua pertiga mukosa
3	Kedalaman lesi hampir seluruh mukosa



Gambar 5.1 Gambaran Histopatologi Mukosa Lambung Tikus Kelompok Kontrol Negatif, Positif dan Kelompok Perlakuan (HE, 100x)

Keterangan :

- (a) Gambaran epitel normal dengan skoring 0 yang artinya tidak ada perubahan patologis pada kelompok kontrol negatif (K-)
- (b) Nilai skor 3 yang artinya kerusakan pada hampir seluruh mukosa pada kelompok kontrol positif (K+) yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB
- (c) Nilai skor 0,5 yang artinya terdapat erosi superfisial pada kelompok perlakuan 1 (P1) yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB dan diberi ekstrak air teh hijau 50mg/kgBB
- (d) Nilai skor 1 yang artinya terdapat lesi mukosa sedalam sepertiga mukosa pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB dan diberi ekstrak air teh hijau 100 mg/kgBB
- (e) Nilai skor 2 yang artinya terdapat lesi mukosa sedalam dua pertiga pada kelompok perlakuan 3 (P3) yang diinduksi indometasin 30 mg/kgBB dan diberi ekstrak air teh hijau 200 mg/kgBB

Hasil skor integritas epitel mukosa pada penelitian ini dari tiga perlakuan dan dua kelompok kontrol K + dan K – dirangkum pada tabel 5.2

Tabel 5.2 Skor Gambaran Histopatologi Mukosa Lambung Tikus

Kelompok Kontrol / Perlakuan	Tikus	Lapang Pandang					Modus
		I	II	III	IV	V	
K-	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	
	3	0	0	0	0	0	
	4	0	0	0	0	0	
	5	0	0	0	0	0	
K+	6	0,5	1	0,5	1	1	0,5
	7	3	2	2	0	0	
	8	1	0,5	0,5	0,5	0,5	
	9	3	1	2	2	0,5	
	10	0,5	1	0,5	0	3	
P1	11	0	0	2	0	0,5	0
	12	0	0	0	0,5	0,5	
	13	1	1	0,5	0,5	0,5	
	14	0	1	0,5	1	0	
	15	0,5	0	1	0	1	
P2	16	2	0	0	0	3	0
	17	2	3	1	0	3	
	18	1	0	1	1	3	
	19	0,5	3	0,5	0	0	
	20	2	1	0,5	0	0,5	
P3	21	1	0	2	0	1	0 dan 0,5
	22	3	0,5	3	0,5	0	
	23	2	0	0	0,5	0	
	24	1	3	0,5	0	0	
	25	3	0,5	0,5	0,5	0,5	

Tabel diatas menunjukkan bahwa pengamatan histopatologi seluruh lapang pandang pada perbesaran 100x di kelompok kontrol negatif didapatkan hasil seluruhnya berupa skor 0 yang berarti tidak terdapat perubahan patologis.

Pada kelompok kontrol positif didapatkan skor 0 – 3. Skor 0 terdapat pada 3 lapang pandang, skoring 0,5 pada 9 lapang pandang, skoring 1 terdapat 6 lapang pandang, skoring 2 terdapat 4 lapang pandang dan skoring 3 terdapat 3 lapang pandang. Dari hasil pengamatan maka nilai skor 0,5 merupakan modus dari kelompok ini. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) didapat skor 0 – 2. Skor 0 terdapat 10 lapang pandang, skor 0,5 terdapat 8 lapang pandang, skor 1 terdapat 6 lapang pandang dan skor 2 terdapat 1 lapang pandang. Modus dari kelompok P1 adalah skor 0. Skor 0 - 3 ditemukan di kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3). Pada kelompok P2 modus berupa skor 0 dengan rincian skor 0 terdapat 8 lapang pandang, skor 0,5 terdapat 4 lapang pandang, skor 1 terdapat 5 lapang pandang, skor 2 terdapat 3 lapang pandang dan skoring 3 terdapat 5 lapang pandang sedangkan pada kelompok P3 didapatkan skor 0 pada 8 lapang pandang, skor 0,5 terdapat 8 lapang pandang, skor 1 terdapat 3 lapang pandang, skor 2 terdapat 2 lapang pandang dan skor 3 terdapat 4 lapang pandang. Modus pada kelompok P3 yaitu skor 0 dan skor 0,5.

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Kruskal Wallis

Uji Kruskal Wallis dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan kedalaman lesi mukosa sesudah diberi ekstrak air teh hijau. Perbedaan dapat dikatakan signifikan jika $P < 0,05$. Dari hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai P sebesar 0,000 sehingga dapat dikatakan ada perbedaan signifikan pada gambaran histopatologi kedalaman lesi mukosa lambung setelah diberi ekstrak air teh hijau.

5.2.2 Uji Mann Whitney

Uji Mann Whitney dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antara dua kelompok. Dikatakan ada perbedaan yang signifikan apabila nilai P kurang dari 0,05.

Tabel 5.3 Hasil Uji Mann Whitney

	K-	K+	P1	P2	P3
K-		0.000	0.000	0.000	0.000
K+	0.000		0.01	0.079	0.195
P1	0.000	0.01		0.076	0.296
P2	0.000	0.079	0.076		0.509
P3	0.000	0.195	0.296	0.509	

Dari hasil uji Mann Whitney didapatkan $P < 0,05$ antara kelompok kontrol negatif (K-) dengan kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan (P1,P2 dan P3). Perbedaan yang signifikan juga didapatkan antara kelompok kontrol positif (K+) dengan kelompok perlakuan 1 (P1). Hasil perbedaan yang tidak signifikan didapatkan antara kelompok K+ dengan kelompok P2 dan P3. Hasil tidak signifikan juga didapatkan antarkelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) dengan nilai $P > 0,05$.

5.2.3 Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi Spearman adalah uji korelasi nonparametrik untuk mengetahui kuatnya hubungan antara dua variabel yaitu dosis perlakuan (P1, P2 dan P3) terhadap gambaran histopatologi. Dikatakan memiliki hubungan yang signifikan bila nilai $P < 0,05$. Dari hasil uji korelasi Spearman didapatkan nilai

koefisien korelasi sebesar 0,125 yang berarti korelasi antara dosis perlakuan dengan gambaran histopatologi sangat lemah. Nilai P sebesar 0,285 ($P > 0,05$) yang artinya hasil tidak signifikan. Hal ini dapat diartikan bahwa dosis berapapun menghasilkan efek yang sama terhadap kedalaman lesi mukosa yang dilihat secara histopatologis.



BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, data dianalisis menggunakan statistik non parametrik Kruskal-Wallis, Mann Whitney dan uji korelasi Spearman. Dari hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai p sebesar 0,000 yang berarti ada perbedaan signifikan pada gambaran histopatologi kedalaman lesi mukosa lambung setelah diberi ekstrak air teh hijau. Hasil uji Mann Whitney antara kelompok kontrol negatif (K-) dan kontrol positif (K+) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan terhadap skoring berdasarkan kedalaman lesi mukosa lambung. Hal ini karena indometasin yang merupakan golongan OAINS menghambat enzim siklooksigenase (COX) sehingga pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat terhambat (Brunton *et al*, 2008). Adapun indometasin menghambat enzim COX 1 dan COX 2 dimana penghambatan COX 1 lebih efektif. Penghambatan COX 1 menyebabkan hilangnya prostaglandin protektif gaster yang berfungsi mempertahankan integritas permukaan lambung (Schwab, 2011) dengan mempertahankan mucus, bikarbonat, aliran darah mukosa dan proteksi epitel dan endotel (Jackson *et al*, 2000) sehingga terjadi kerusakan mukosa lambung dan keluarnya mediator inflamasi, jika dibiarkan makan akan terjadi ulkus gaster (Indraswari, Kalsum & Sudjari, 2004).

Dari hasil uji Mann Whitney antara kelompok perlakuan 1 (P1) dengan kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok kontrol negatif (K-) didapatkan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan adanya perbaikan mukosa lambung pada kelompok P1 namun tidak kembali seperti semula seperti pada

kelompok kontrol negatif. Hal ini dikarenakan adanya polifenol katekin dalam teh hijau yaitu *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) (Peairs *et al*, 2010). EGCG memiliki efek antiinflamasi (Sugihartini, 2013) dan telah terbukti mempercepat penyembuhan ulkus yang diinduksi indometasin dalam waktu 3 hari (Adhikary *et al*, 2011) dengan mekanisme menghambat ekspresi sitokin proinflamasi, *tumor necrosis factor-- α* (TNF- α), produksi interleukin-1 β (IL-1 β), interferon- γ (IFN- γ) dan COX-2 (Trompezinski *et al*, 2003). Perbedaan yang signifikan ini juga didukung oleh sudah terbuktinya efek antiulseratif pada teh hijau (Ngobidi *et al*, 2016).

Perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok kontrol positif (K+) dengan kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3) menandakan tidak terdapat perbaikan mukosa lambung yang bermakna pada kedua kelompok tersebut. Hal ini disebabkan oleh sifat polifenol yang bersifat antioksidan pada konsentrasi rendah dan prooksidan pada konsentrasi tinggi. EGCG yang merupakan senyawa aktif utama pada teh hijau memiliki sifat prooksidan (Watjen *et al*, 2005). Hal ini didukung oleh penelitian yang membuktikan timbulnya kematian pada dosis 150 mg/kg kurang dari 24 jam (Galati *et al*, 2006) dan adanya efek antiansietas pada dosis 30 mg/kg dan 60 mg/kg pada tikus (Vignes *et al*, 2006). Adanya aktifitas prooksidan ini menyebabkan keluarnya peroxiredoxin 2 (PRDX 2) yang berperan sebagai redox mediator inflamasi dan mengaktivasi makrofag untuk menghasilkan TNF- α (Salzanoa *et al*, 2014). Lepasnya mediator inflamasi ini menimbulkan reaksi inflamasi berupa panas, nyeri, merah, bengkak dan gangguan fungsi (Katzung, 2004).

Selain itu, EGCG dalam teh hijau memiliki efek antiangiogenesis dengan menurunkan produksi vascular endothelial growth factor (VEGF), menghambat

ekspresi dan aktivitas reseptor VEGF (Lamy S *et al*, 2003; Kojima *et al*, 2003). Pemberian teh hijau secara oral memberikan efek antiangiogenik yang kuat dengan dosis efektif 10–50 μm (Fassina *et al*, 2004). Pada sisi lain, proses angiogenesis memegang peranan penting dalam proses penyembuhan. Jika angiogenesis tidak terjadi maka jaringan akan kekurangan nutrisi sehingga tidak dapat berkembang bahkan dapat mati (Bornardo *et al*, 2015). Hal – hal yang telah disebutkan diatas merupakan alasan tidak adanya perbaikan yang berarti pada kelompok P2 dan P3.

Hal ini didukung dengan pernyataan Stephen Bent (2006) bahwa obat herbal tidak sepenuhnya aman, tetap akan ada efek samping yang ditimbulkan. Dibutuhkan regulasi untuk mengetahui efikasi dan keamanan dari obat herbal itu sendiri.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ngobidi *et al* (2016) dimana dengan penambahan dosis didapatkan efek antiulseratif yang lebih baik. Pada penelitian ini, induksi lesi gaster menggunakan etanol dan pemberian ekstrak teh hijau dilakukan hanya sekali dan diberikan setengah jam setelah pemberian etanol. Pada penelitian Induksi lesi menggunakan etanol memiliki mekanisme yang berbeda dengan induksi menggunakan indometasin. Pada etanol, faktor yang menimbulkan ulkus gaster adalah aliran darah gaster yang menurun sehingga mendukung terjadinya perdarahan dan nekrosis pada mukosa gaster (Solmaz *et al*, 2009) sedangkan mekanisme penginduksian lesi menggunakan indometasin adalah penghambatan COX 1 sehingga prostaglandin protektif gaster hilang dan mempengaruhi homeostasis mucus, bikarbonat, aliran darah mukosa dan proteksi epitel dan endotel (Jackson *et al*, 2000). Selain itu, pemberian ekstrak

etanol teh hijau pada penelitian yang dilakukan Ngobidi et al dilakukan lebih cepat. Hal – hal ini tentunya mempengaruhi keparahan lesi sehingga efek ekstrak teh hijau pada penelitian yang dilakukan Ngobidi et al tentunya akan lebih baik.

Hasil perbedaan yang tidak bermakna didapatkan pada uji Mann Whitney antarkelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) dengan nilai $P > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa hasil skoring antar perlakuan tidak berbeda secara statistik. Hubungan ini diperkuat dengan uji korelasi spearman. Pada uji korelasi Spearman didapatkan koefisien korelasi yang lemah sebesar 0,125 dan nilai P 0,285 ($P > 0,05$) yang berarti tidak signifikan. Hal ini menandakan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara penambahan dosis dengan skor kedalaman lesi mukosa.

Hasil penelitian ini menandakan bahwa pemberian ekstrak air teh hijau benar dapat memperbaiki gambaran histopatologi kedalaman lesi mukosa lambung tikus pada dosis tertentu saja, dalam penelitian ini yaitu dosis 50 mg/kgBB namun perlu diingat penambahan dosis tidak memberikan efek perbaikan yang bermakna.

Penelitian ini telah dilakukan berdasarkan dengan prosedur ilmiah yang ada, namun masih memiliki keterbatasan yaitu pengamatan mikroskopis hanya dilakukan oleh peneliti sendiri tanpa keikutsertaan orang lain sehingga kurang objektif serta tidak dilakukan *blinded* dalam penilaian gambaran histopatologi mukosa lambung tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A. K., Lichtman A. H., Pillai S., 2015, *Cellular and Molecular Immunology Eighth Edition*, Elsevier Inc., Philadelphia, p. 73.
- Adhikary B., Yadav S. K., Bandyopadhyay S. K., Chattopadhyay S. Epigallocatechin gallate accelerates healing of indomethacin-induced stomach ulcers in mice, *Pharmacological Reports*, 2011, 63: 527-36.
- Anindita R., Soeprbowati T. R., Suprapti N. H., Potensi Teh Hijau (*Camelia Sinensis L.*) Dalam Perbaikan Fungsi Hepar Pada Mencit yang Diinduksi Monosodium Glutamat (MSG). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 2012 vol 20 no 2: 15-23.
- Bent S., Herbal Medicine in the United States: Review of Efficacy, Safety, and Regulation. *Journal of General Internal Medicine*. 2008. Vol 23 issue 6 : 854 – 9
- Bornardo B., Christina H., Fransisca C., Kristin K., Caroline, Sudiono J. Peran Monosit (Makrofag) Pada Proses Angiogenesis Dan Fibrosis, *Seminar Nasional Cendkiawan*, 2015, ISSN: 2460-8696.
- Brunton L.L., Chabner B.A., Knollmann B. C., 2011, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 12th Ed.*, Mc Graw Hill, New York, hal 429 & 963.
- Cavet M. E., Harrington K. L., Vollmer T. R., Ward K. W., Zhang J. Z., Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of the green tea polyphenol epigallocatechin gallate in human corneal epithelial cells, *Molecular Vision*, 2011, 17:533-42.
- DeLong L. & Burkhart N.W., 2013. *General and Oral Pathology for the Dental Hygienist Second Edition*. Philadelphia: Wolter Kluwer, pp: 53-5.
- Djam'an, Q., 2008, *Pengaruh Air Perasan Daun Cincau *Cyclea barbata* Miers (cincau hijau) Terhadap Konsentrasi HCl Lambung Dan Gambaran*

Histopatologi Lambung Tikus Galur Wistar Yang Diinduksi Acetylsalicylic Acid, Tesis, Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro, Semarang.

Eleanor B. & Graham A., 2007, *Simple Guide: Nyeri punggung*, Erlangga, Jakarta, hal 86.

Fassina G, Venè R, Morini M, Minghelli S, Benelli R, Noonan DM, Albin A., Mechanisms of inhibition of tumor angiogenesis and vascular tumor growth by epigallocatechin-3-gallate. *Clin Cancer Res.* 2004 Jul 15;10(14):4865-73.

Galati G, Lin A, Sultan AM, O'Brien PJ. Cellular and in vivo hepatotoxicity caused by green tea phenolic acids and catechins. *Free Radic Biol Med* 2006; 40:570-80.

Gorski A., Krotkiewski H. & Zimecki M., 2011, *Inflammation*, Kluwer Academic Publisher, Belanda, hal 67.

Hibbs J.B., Talntor R. R., Vavrin Z., Granger D. L., Drapler J. C., Amber I. J. & Lancaster J. R., 1990, *Synthesis of nitric oxide from a terminal guanidino nitrogen atom of L-arginine a molecular mechanism regulating cellular proliferation that targets intracellular iron, m Nitric Oxide from L-Arginine; Bioregulatory System*, Elsevier, Philadelphia, p. 189.

Hoffman R., 2013. EGCG: Potent extract of green tea. <http://drhoffman.com/article/egcg-potent-extract-of-green-tea-2/>

Indraswari C. I., Kalsum U., Sudjari, Pengaruh Pemberian Temulawak pada Lambung Tikus yang Mengalami Ulkus Peptikum Akibat Induksi Indometasin. *Jurnal Kedokteran Brawijaya XX*, 2004, 96-9.

Jackson LM, Wu KC, Mahida YR, *et al*/Cyclooxygenase (COX) 1 and 2 in normal, inflamed, and ulcerated human gastric mucosa. *Gut* 2000;47:762-70.

Katzung B.G., 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 3 Edisi 8*, Bagian Farmakologi FK UNAIR (Penerjemah), Penerbit Salemba Medika, Surabaya. Hal 37-41.

Katzung B.G. & Trevor A. J., 2015, *Basic & Clinical 13th Ed*, Lange medical book, USA, hal 621-5

- Kee J. L. & Hayes E. R., 1996, *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal 311 - 3
- Kojima-Yuasa A, Hua JJ, Kennedy DO, Matsui-Yuasa I. Green tea extract inhibits angiogenesis of human umbilical vein endothelial cells through reduction of expression of VEGF receptors. *Life Sci*, 2003;73:1299–313
- Kumar V., Abbas A. K., Aster J. C., 2015. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 9th Ed., Elsevier Inc., Philadelphia, p. 69-70.
- Lalenti A., Lanaro A., Moncada S., Rosa M. D., Modulation of Acute Inflammation by Endogenous Nitric Oxide. *European Journal of Pharmacology*, 1992, 211(1992): 177-82.
- Lamy S, Gingras D, Belivea u R. Green teas catechins inhibit vascular endothelial growth factor receptor phosphorylation. *Cancer Res*, 2002; 62:381–85.
- Larsen G. L. & Henson P. M., Mediators of Inflammation. *Annual Review of Immunology*, 1083, 1:335-9.
- Liu C. Y., Huang C. J., Huang L. H., Chen I. J., Chiu J. P., Hsu C. H., Effects of Green Tea Extract on Insulin Resistance and Glucagon-Like Peptide 1 in Patients with Type 2 Diabetes and Lipid Abnormalities: A Randomized, Double-Blinded, and Placebo-Controlled Trial, *PLoS ONE*, 2014, 9(3): e91163.
- Majno G. & Joris I., 2004, *Cells, Tissues, and Disease: Principles of General Pathology*, Oxford University Press, Oxford, UK, p. 349-57, 370.
- Martini F. H., Timmons M. J., Tallitsch R. B., 2015, *Human Anatomy* 8th Ed., Pearson, USA, p. 671 & 674.
- Min K. J. & Kwon T. K., Anticancer effects and molecular mechanisms of epigallocatechin-3-gallate, *Integrative Medicine Research*, 2014, volume 3 issue 1: 16-24.
- Mitchell, Kumar, Abbas, Fausto, 2016. *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit Edisi 7*, EGC, Indonesia, hal 215-6.

- Moncada S., Palmer R. M. J. & Higgs E. A., Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine ISa pathway for the regulation of cell function and commumcatlon, *Biochem Pharmacol*, 1989, 38, 1709.
- Neal M. J., 2006, *At A Glance Farmakologi Medis Edisi Kelima*, Erlangga, Jakarta, hal 71.
- Ngobidi K. C., Igbokwe G. E., Ajayi A. A., Otuchristian G., Obasi S. E., Osigwe A. O., Adindu S. C., Anti-Ulcerative Effect of Ethanol Leaf Extract of *Camellia Sinensis* on Albino Rats Induced Ulcer with Ethanol, *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, 2016, 3(7): 28-33.
- O'Malley P., Gastric ulcers and GERD: the new "plagues" of the 21st century update for the clinical nurse specialist, *Clinical Nurse Specialist*, 2003, 17:286-9.
- Palmer R.M.J., Ferrige A. G. & Moncada S., Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor, *Nature*, 1987, 327, 524
- Peairs A., Dai R., Gan L., Shrimp S., Rylander M. N., Li L., Reilly C. M., Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) attenuates inflammation in MRL/lpr mouse mesangial cells, *Cellular and Molecular Immunology*, 2011, 7 :123-32
- Ramadan G., El-Beih N. M., El-Ghffar E. A. A., Modulatory effects of black v. green tea aqueous extract on hyperglycaemia, hyperlipidaemia and liver dysfunction in diabetic and obese rat models, *British Journal of Nutrition*, 2009, 102:1611-9.
- Ren K. & Torres R. *Role of Interleukin-1 β During Pain and Inflammation*, 2009, 60(1): 57-64.
- Ricciotti E. & FitzGerald G. A., Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2011, 31(5): 986-1000.
- Ross I. A., 2005, *Medicinal Plants of the World Volume 3*, Humana press, USA, hal 2.

- Rustam E., Atmasari I., Yanwirasti. Efek antiinflamasi ekstrak etanol kunyit (*Curcuma domestica* Val.) pada tikus putih jantan galur wistar. *J Sains dan Tek Farm*, 2007, 12(2): 112-5.
- Salzano S., Checconia P., Hanschmann E. M. et al., "Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal," *Proceeding of National Academy of Sciences of United States of America*, 2014 vol. 111, no. 33, pp. 12157–62.
- Sanusi I. A., 2011. Tukak Lambung Dalam Rani, Aziz., Simadibrata, M., Syam, A.F., (eds), *Buku Ajar Gastroenterologi*, Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam, Jakarta.
- Schwab M., 2011, *Encyclopedia of Cancer 3rd Ed*, springer, Jerman, p. 1034-5.
- Setyamidjaja D., 2000, *Teh Budidaya dan Pengolahan Pascapanen*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, hal 70.
- Sevillano D. M., Wielen L. A. M. V. D., Trifunovic O., Ottens M., Model Comparison for the Prediction of the Solubility of Green Tea Catechins in Ethanol/Water Mixtures, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2013, 52:6039-48.
- Shutava T. G., Balkundi S. S., Lvov Y. M., Epigallocatechin gallate/gelatin layer-by-layer assembled films and microcapsules, *J. Colloid Interface Sci*, 2009, 330 (2), 276–83.
- Sibilia *et al*, Ghrelin Protects Against Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats: Studies on the Mechanism of Action, *Endocrinology*, 2003, 144(1): 353-9.
- Smith T., 2011, *Coping with Stomach Ulcers*, Sheldon press, London, UK.
- Solmaz A., Sener G., Cetinel S., Yuksel M., Yegen C., Yegen B. C. Protective and Therapeutic Effects of Resveratrol on Acetic Acid-Induced Gastric Ulcer. 2009. *Free Radical Research*. Vol 43 (6): 594:603.
- Soraya N., 2007, *Sehat dan Cantik Dengan Teh Hijau*, Penebar Plus, Jakarta, hal 10-1.

- Syah A. N. A., 2006, *Taklukan Penyakit Dengan Teh Hijau*, Agro Media Pustaka. Jakarta, Hal. 34.
- Tarigan P., 2009. Tukak Gaster, Dalam Sudoyo A. W., Setiyohadi B., Alwi I., Simadibrata M., Setiati S., (eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Ilmu Dalam Edisi V Jilid I*, Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam, Jakarta.
- Tipoe G. L., Leung T. M., Hung M. W., Fung M. L., Green tea polyphenols as an anti-oxidant and anti-inflammatory agent for cardiovascular protection, *Cardiovascular Hematology Disorder Drug Targets*, 2007, Jun; 7(2):135-44.
- Trompezinski S., Denis A., Schmitt D., Viac J., Comparative effects of polyphenols from green tea (EGCG) and soybean (genistein) on VEGF and IL-8 release from normal human keratinocytes stimulated with the proinflammatory cytokine TNF-alpha. *Archives of Dermatological Research*, 2003, 295:112-6.
- Vignes M, Maurice T, Lante F, Nedjar M, Thethi K, Guiramand J, et al. Anxiolytic properties of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate (EGCG). *Brain Res* 2006; 1110:102-15.
- Wahju M., 1993, *Bercocok Tanam Teh*, aneka ilmu, Semarang, hal 150.
- Watjen W, Michels G, Steffan B, Niering P, Chovolou Y, Kampkotter A, et al. Low concentrations of flavo- noids are protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis. *J Nutr* 2005; 135:525-31.