



## TINJAUAN PUSTAKA

POTENSI *EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE* TERMIKROENKAPSULASI NANOLIPOSOME SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN PENYAKIT PARKINSON: SEBUAH TINJAUAN PUSTAKAAmanda Belva Almira,<sup>1</sup> Maghfira Rahma Azizah,<sup>1</sup> Ritma Ratri Ayunda Putri<sup>1</sup>

## ABSTRAK

**Pendahuluan:** Parkinson adalah penyakit *neurodegenerative* progresif yang ditandai dengan hilangnya neuron dopamin di *substansia nigra pars compacta*. Saat ini, ada beberapa agen terapeutik untuk mengobati penyakit parkinson, tetapi hanya mengobati gejalanya saja bukan faktor pemicunya. *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) adalah komponen bioaktif teh hijau yang paling terkenal (misalnya, *Camellia sinensis*) yang berpotensi mencegah penyakit parkinson (PD). Untuk mengoptimalkan efek antioksidan, EGCG harus dienkapsulasi dengan *nanoliposome* sebagai sistem pengiriman untuk melindungi stabilitas dan bioaktivitasnya. *Literature review* ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas *Epigallocatechin-3-gallate* dengan mikroenkapsulasi *nanoliposome* dalam mencegah penyakit parkinson. **Pembahasan:** Pada berbagai hewan dan *cell lines* model PD, EGCG terbukti aman dan efektif dalam mencegah penyakit parkinson. Penelitian lain menyatakan bahwa penggunaan *nanoliposome* sebagai agen mikroenkapsulasi terbukti efektif dalam mempertahankan viabilitas EGCG. **Kesimpulan:** EGCG dengan mikroenkapsulasi *nanoliposome* terbukti aman dan efektif secara *in vitro* dan *in vivo* dalam mencegah penyakit parkinson.

**Kata kunci:** *Epigallocatechin-3-gallate*, *Nanoliposome*, Neuroproteksi, Penyakit Parkinson

## ABSTRACT

**Background:** Parkinson's is a progressive neurodegenerative disease characterized by loss of dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta. Nowadays, there are several therapeutic agents to treat parkinson disease, in fact, these can only treat the symptoms not the trigger factor. *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) is the best-known bioactive component of green tea (e.g., *Camellia sinensis*) that has the potential in preventing Parkinson's disease (PD). To optimize the antioxidant effect, EGCG must be encapsulated with *nanoliposome* as a delivery system to protect its stability and bioactivity. This literature review aims to determine the effectiveness of *Epigallocatechin-3-gallate* with *nanoliposome* microencapsulation in preventing parkinson disease. **Discussion:** EGCG is proven to be safe and effective in preventing parkinson disease. Another study stated that the use of *nanoliposome* as a microencapsulation agent proved effective in maintaining the viability of EGCG. **Conclusion:** EGCG with *nanoliposome* microencapsulated proved safe and effective *in vitro* and *in vivo* in preventing parkinson disease.

**Keywords:** *Epigallocatechin-3-gallate*, *Nanoliposome*, Neuroprotection, Parkinson Disease

## PENDAHULUAN

Saat ini, penyakit neurologis terkait usia merupakan penyebab disabilitas nomor satu di dunia dan penyakit neurodegeneratif yang memiliki peningkatan pesat angka disabilitas serta mortalitas tertinggi kedua di seluruh dunia adalah penyakit parkinson.<sup>[1,2]</sup> Terhitung sejak tahun 1990 hingga 2015, jumlah penderita parkinson meningkat pesat sebesar 118% menjadi 6,2 juta jiwa dan diperkirakan akan mencapai 12 juta jiwa pada tahun 2040 mendatang.<sup>[1]</sup> Tentunya angka prevalensi yang tinggi tersebut dapat menjadi beban sosial dan ekonomi yang tidak sedikit bagi suatu negara.<sup>[2]</sup> Di Asia sendiri diperkirakan angka kejadian parkinson akan meningkat dari 2,57 juta pada tahun 2005 menjadi 6,17 juta pada tahun 2030.<sup>[3]</sup> Peningkatan ini diprediksi terutama akan terjadi di negara dengan penduduk terpadat di Asia, seperti China, India, dan Indonesia.<sup>[3]</sup>

Parkinson didefinisikan sebagai penyakit neurodegeneratif progresif yang secara khas ditandai dengan hilangnya neuron dopamin di *substansia nigra pars compacta* serta adanya agen manajemen yang tidak hanya meredakan tingkat keparahan gejalanya tetapi juga mengatasi akar masalah patologisnya.<sup>[2]</sup> Penelitian terkini menunjukkan bahwa kandungan senyawa *catechin* dalam teh hijau memiliki efek potensial dalam

akumulasi dari *alpha-synuclein* yang membentuk agregat dan dikenal dengan istilah *Lewy bodies*.<sup>[4,5]</sup> Penyakit parkinson diketahui memiliki etiologi multifaktorial.<sup>[6]</sup> Lingkungan dan genetik memegang peranan yang cukup penting dalam timbulnya parkinson.<sup>[6]</sup> Beberapa sebab utama dari munculnya penyakit parkinson diantaranya yaitu adanya akumulasi radikal bebas yang berlebih, ketidakmampuan tubuh untuk memproduksi antioksidan dalam jumlah yang cukup, dan kerusakan genetik pada kompleks mitokondria.<sup>[7]</sup> Dewasa ini, diketahui bahwa laki-laki memiliki risiko dua kali lipat lebih tinggi untuk menderita parkinson daripada perempuan.<sup>[8]</sup> Namun sebaliknya, tingkat mortalitas dan kecepatan progresivitas penyakit parkinson lebih tinggi pada perempuan dibandingkan pada laki-laki.<sup>[8]</sup>

Saat ini, agen terapi yang digunakan untuk mengatasi penyakit parkinson hanya berorientasi pada gejalanya saja, tetapi belum mengatasi penyebab utamanya.<sup>[2]</sup> Oleh karena itu, diperlukan suatu mencegah penyakit neurodegeneratif termasuk parkinson dan salah satu senyawa *catechin* yang cukup penting dalam teh hijau adalah *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG).<sup>[7]</sup> Namun, penggunaan EGCG peroral memiliki stabilitas

<sup>1</sup> Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Kota Malang

farmakokinetik yang rendah ditinjau dari tingkat absorpsi dan bioavailabilitasnya.<sup>[2,9]</sup> Oleh karena itu, untuk mendukung efektivitasnya diperlukan suatu agen penghantar yang baik, salah satunya melalui metode mikroenkapsulasi *nanoliposome*. *Nanoliposome* merupakan salah satu biokarier yang dipercaya memiliki kemampuan untuk meningkatkan penetrasi EGCG ke dalam jaringan dan menurunkan laju klirens EGCG di liver dan limpa.<sup>[2,9]</sup>

## PEMBAHASAN

Sepuluh studi eksperimental yang memenuhi kriteria tinjauan pustaka membahas peran EGCG sebagai upaya pencegahan penyakit parkinson. Studi dilaksanakan secara *in vitro* (n=4) dan *in vivo* (n=6). Secara umum, rangkuman hasil tinjauan digambarkan pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Rangkuman Hasil Studi

<b>Authors</b>	<b>Populasi</b>	<b>Desain Studi, Metode, dan Parameter</b>	<b>Intervensi</b>	<b>Hasil</b>
Cheng CY, et al., 2021	14 tikus jantan jenis SD dengan berat 250 – 300 gram dan dibagi menjadi 3 kelompok (kontrol, 15 $\mu$ L LPS dan LPS+10 mL/kgBB EGCG)	<b>Desain Studi:</b> Eksperimental <i>In Vivo</i> <b>Metode:</b> <i>Animal behavioral test</i> , qRT-PCR analysis <b>Parameter:</b> Jumlah lesi unilateral sistem nigostriatum dan kadar TNF- $\alpha$ pada otak hewan coba	EGCG 10 mL/kgBB, EGCG 10 $\mu$ M dan LPS 15 $\mu$ L	1. <b>EGCG dapat menurunkan 40% lesi unilateral di sistem nigostriatum yang diakibatkan oleh LPS</b> pada kelompok tikus yang diinjeksi 15 $\mu$ L LPS+10 $\mu$ M EGCG dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya diinjeksi 15 $\mu$ L LPS tanpa diberi EGCG ( $p < 0,05$ ). 2. <b>Terdapat penurunan konsentrasi TNF-<math>\alpha</math> sebesar 83%</b> pada otak tikus yang diinjeksi EGCG 10 mL/kgBB selama 24 jam sebelum diberi 15 $\mu$ L LPS 7 hari setelahnya dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya diberi 15 $\mu$ L LPS tanpa pemberian EGCG ( $p < 0,05$ ).
Xu Q, et al., 2017	Tikus jantan hitam jenis C57 dengan berat 25 gram dan dibagi menjadi 3 kelompok (kontrol, 20 mg/kgBB MPTP dan MPTP+25 mg/kgBB EGCG)	<b>Desain Studi:</b> Eksperimental <i>In Vivo</i> <b>Metode:</b> <i>Accelerated rotarod test</i> , protein carbonyl assay, western blot analysis <b>Parameter:</b> Konsentrasi protein karbonil serta DA striatum pada hewan coba	EGCG 25 mg/kgBB dan MPTP 20 mg/kgBB	1. Kelompok tikus yang diinduksi MPTP+25 mg/kgBB EGCG menunjukkan <b>penurunan konsentrasi protein karbonil sebesar 30%</b> dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya diinduksi MPTP 20 mg/kgBB ( $p < 0,05$ ). 2. Kelompok tikus yang diinduksi MPTP+25 mg/kgBB EGCG menunjukkan <b>peningkatan konsentrasi DA striatum sebesar 38%</b> dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya diinduksi MPTP 20 mg/kgBB ( $p < 0,05$ ).
Xu Y, et al., 2020	<i>Drosophila melanogaster</i> usia 20 hari model parkinson dan diberi makan yang mengandung bakteri usus serta dirandomisasi ke dalam 5 kelompok (kontrol, EGCG, PINK1B9+EGCG, tetrasiklin hidroklorida+PINKB19+EGCG, ROT+PINKB19+EGCG)	<b>Desain studi:</b> Eksperimental <i>In Vivo</i> <b>Metode:</b> <i>Behavioral assay (climbing and flight assay)</i> , lifespan analysis, imunohistokimia, analisis mikrobiom, ekstraksi RNA dan <i>transcriptional profiling</i> , analisis PCR kuantitatif <b>Parameter:</b> Jumlah transkripsi gen TotM, kemampuan pendakian, dan lompatan	EGCG 0,1 mM dan 0,5 mM dalam medium <i>cornmeal agar</i>	Lalat yang terpapar ROT menunjukkan kerusakan yang cukup besar pada penggerak dan morfologi saraf ( $p = 0.002$ versus WT untuk uji pendakian, $p = 0.011$ versus WT untuk penilaian lompatan dan $p < 0.001$ untuk jumlah neuron DA) <b>tetapi dapat diselamatkan dengan EGCG</b> ( $p = 0.031$ untuk uji pendakian, $p = 0.006$ untuk penilaian lompatan, $p = 0.013$ untuk nomor neuron DA).

Zhou T, <i>et al.</i> , 2018	20 ekor tikus jantan jenis C57BL/6J usia 6-8 minggu dengan berat 16-25 gram yang dibagi ke dalam 4 kelompok (kontrol, MPTP EGCG 25 mg/kgBB dan EGCG 50 mg/kg/hari)	<b>Desain studi:</b> Eksperimental <i>In Vivo</i> <b>Metode:</b> <i>Immunofluorescence, pole test, flow cytometric analysis</i> dan ELISA assay <b>Parameter:</b> Rasio CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> dengan CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> dan kadar TNF- $\alpha$ serta IL-6	EGCG 50 mg/kgBB/hari dan MPTP 30 mg/kgBB/hari	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pemberian EGCG 50 mg/kgBB meningkatkan rasio CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> dengan CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> sebesar 47% dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya diberikan MPTP tanpa intervensi EGCG (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> <li>2. Pemberian EGCG 50 mg/kgBB menurunkan kadar TNF-<math>\alpha</math> dan IL-6 sebesar 30% dibandingkan dengan kelompok tikus yang hanya diberikan MPTP tanpa intervensi EGCG (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> </ol>
Zhou W, <i>et al.</i> , 2019	30 ekor tikus jantan usia 3-3,5 bulan dengan berat 300 – 350 gram yang dibagi ke dalam 3 kelompok (kontrol, model parkinson 6-OHDA, dan model parkinson 6-OHDA dengan intervensi EGCG)	<b>Desain studi:</b> Eksperimental <i>In Vivo</i> <b>Metode:</b> <i>Behavioral test, TUNEL assay, imunohistokimia</i> dan <i>western blot assay</i> <b>Parameter:</b> Jumlah apoptosis sel neuron, kadar $\alpha$ -synuclein, ekspresi p-mTOR, p-AKT dan p-GSK-3 $\beta$	EGCG 50 mg/kgBB/hari	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Jumlah apoptosis sel neuron pada kelompok tikus yang diberi intervensi EGCG 50 mg/kgBB/hari menurun sebesar 67% dibandingkan dengan kelompok tikus model parkinson (<math>p &lt; 0,01</math>).</li> <li>2. Kadar <math>\alpha</math>-synuclein pada kelompok tikus yang diberi intervensi EGCG 50 mg/kgBB/hari mengalami penurunan sebesar 34% dibandingkan kelompok kontrol (<math>p &lt; 0,01</math>).</li> <li>3. Kadar p-mTOR, p-AKT dan p-GSK-3<math>\beta</math> pada kelompok tikus yang diberi intervensi EGCG 50 mg/kgBB/hari meningkat berturut-turut sebesar 67%, 57% dan 50% dibandingkan kelompok tikus model parkinson (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> </ol>
Tseng, <i>et al.</i> , 2019	64 ekor tikus Wistar dibagi dalam 8 kelompok (kontrol, terapi ROT, EGCG 30 mg/kg, EGCG 100 mg/kg, EGCG 300 mg/kg, EGCG 30 mg/kg + ROT, EGCG 100 mg/kg + ROT, dan EGCG 300 mg/kg + ROT).	<b>Desain studi:</b> Eksperimental <i>In Vivo</i> <b>Metode:</b> <i>Open field test, Rotarod performance test, beam-crossing task, uji kolorimeter</i> (reagen Greiss), uji TBARS, uji GSH (reagen Ellman), uji SOD, uji CAT, <i>immunoassay</i> , kolorimeter <i>caspase-3</i> , HPLC dengan detektor elektrokimia, <i>mitochondrial measurement</i> <b>Parameter:</b> Fungsi motorik, fungsi lokomotor, latensi jatuh, kekuatan cengkraman kaki depan, jumlah jatuh, waktu melintasi balok, produksi NO dan TBARS, kadar GSH, kadar SOD, kadar CAT, fungsi mitokondria, neurohormon (DA, NE, 5-HT, 5-HIAA, DOPAC, dan HVA), penanda neuroinflamasi	EGCG 30 mg/kg, 100 mg/kg, dan 300 mg/kg	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pemberian EGCG 100 mg/kg dan 300 mg/kg pada kelompok ROT dapat mengurangi terjadinya gangguan motorik dan koordinasi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok tanpa intervensi EGCG (<math>p &lt; 0,001</math>).</li> <li>2. EGCG memperbaiki fungsi lokomotor, latensi untuk jatuh, kekuatan cengkraman kaki depan, peningkatan jumlah jatuh, dan waktu untuk melewati balok pada dosis 100 mg/kg dan 300 mg/kg (<math>p &lt; 0,001</math>).</li> <li>3. EGCG menghambat peningkatan produksi striatal NO dan TBARS pada kelompok ROT (175<math>\pm</math>7 <math>\mu</math>g/ml dan 56.4<math>\pm</math>5.4 dengan EGCG 100 mg/kg; 164.4 <math>\pm</math> 7.8 <math>\mu</math>g/ml dan 38.6 dengan EGCG 300 mg/kg; <math>p &lt; 0,001</math>).</li> <li>4. Penurunan kadar GSH, SOD, dan CAT pada kelompok ROT ditingkatkan secara signifikan dengan pemberian EGCG 100 mg/kg (<math>p &lt; 0,001</math>).</li> <li>5. Pemberian EGCG 100 mg/kg mengurangi disfungsi mitokondria striatal pada kelompok ROT dengan</li> </ol>

				<p>meningkatkan kadar SDH, total ATPase, NADH-cytochrome C reductase, dan succinate-cytochrome C reductase (<math>p &lt; 0,001</math>).</p> <p>6. <b>Penurunan kadar DA, NE, 5-HT, dan 5-HIAA</b> serta <b>peningkatan kadar DOPAC dan HVA dapat kembali normal</b> dengan pemberian EGCG 100 mg/kg dan 300 mg/kg (<math>p &lt; 0.001</math>).</p> <p>7. <b>Peningkatan penanda neuroinflamasi dan apoptosis striatal pada kelompok ROT dapat dihambat</b> dengan pemberian EGCG 100 mg/kg dan 300 mg/kg (<math>p &lt; 0,001</math>).</p>
Chen D, et al., 2015	Kultur sel N27 dalam medium RPMI-1640 yang mengandung 10% fetal bovine serum, 2mM L-glutamine, 50 U penicillin, dan 50 µg/mL streptomycin serta dipertahankan pada suhu 37°C	<p><b>Desain studi:</b> Eksperimental <i>In Vitro</i></p> <p><b>Metode:</b> SYTOX Green Assay, immunocytochemistry, quantitative real-time PCR analyses, western blot analyses</p> <p><b>Parameter:</b> Kematian sel, viabilitas sel, dan aktivitas caspase-3, jumlah TH+, ekspresi mRNA dari DMT1+IRE, hepcidin, TfR2, H-ferritin, Fpn1 dan TfR1</p>	EGCG 100 µM, 100 µmoles/L	<ol style="list-style-type: none"> <li>Sel yang diberi intervensi EGCG 50 dan 100 µM selama 2 jam sebelum diinduksi 6-OHDA 100 µM selama 6 jam menunjukkan <b>penurunan tingkat kematian sel</b> berturut-turut <b>sebanyak 31%</b> (<math>p &lt; 0,0001</math>) dan <b>55%</b> (<math>p &lt; 0,0001</math>) dibandingkan dengan sel yang tidak diberikan intervensi EGCG.</li> <li>Viabilitas sel yang diinduksi 6-OHDA 100 µmoles/L selama 6 jam mengalami penurunan sebesar 59% dibandingkan kontrol tetapi pemberian EGCG 100 µmoles/L selama 2 jam sebelum diinduksi 6-OHDA secara signifikan dapat <b>memproteksi sel dari efek toksisitas tersebut sebesar 21%</b> (<math>p &lt; 0,01</math>).</li> <li>Sel yang diberi intervensi EGCG 100 µM selama 2 jam sebelum diinduksi 6-OHDA 100 µM selama 6 jam menunjukkan <b>penurunan aktivitas caspase-3 sebesar 49%</b> (<math>p &lt; 0,0001</math>) dibandingkan dengan sel yang tidak diberikan intervensi EGCG.</li> <li>Sel yang diinduksi 6-OHDA 10 µM selama 24 jam menunjukkan penurunan jumlah TH+ cell sebesar 80% dibandingkan kontrol, namun <b>pemberian EGCG 1, 10, dan 100 µM</b> selama 2 jam sebelum diinduksi 6-OHDA secara signifikan <b>meningkatkan jumlah TH+ cell berturut-turut sebesar 155%</b> (<math>p &lt; 0.01</math>), <b>205%</b> (<math>p &lt; 0.001</math>), dan <b>290%</b> (<math>p &lt; 0.0001</math>).</li> <li>Pemberian 6-OHDA 25 µM selama 24 jam secara signifikan meningkatkan ekspresi mRNA DMT1+IRE, hepcidin, TfR2, dan H-ferritin namun menurunkan ekspresi mRNA Fpn1 dan TfR1. Sedangkan <b>intervensi EGCG 100 µM selama 2 jam</b> sebelum</li> </ol>

				<p>pemberian 6-OHDA menunjukkan <b>peningkatan ekspresi mRNA Fpn1 sebesar 70%</b> (<math>p &lt; 0.01</math>) dan <b>TfR1 sebesar 96%</b> (<math>p &lt; 0.05</math>) serta <b>menurunkan ekspresi mRNA DMT1+IRE sebesar 60%</b> (<math>p &lt; 0.001</math>), <b>hepcidin 54%</b> (<math>p &lt; 0.05</math>), <b>H-ferritin 53%</b> (<math>p &lt; 0.05</math>), dan <b>TfR2 sebesar 27%</b> (<math>p &lt; 0.05</math>) dibandingkan dengan sel yang tidak diberikan intervensi EGCG.</p>
Myung-Yul L, <i>et al.</i> , 2013	<p>Kultur sel PC12 dalam medium RPMI-1640 yang mengandung 10% serum donor kuda terinaktivasi panas, 5% serum fetus sapi terinaktivasi panas, 100 unit/mL penicillin, dan 100 µg/mL streptomycin pada suhu 37°C.</p>	<p><b>Desain studi:</b> Eksperimental <i>In Vitro</i></p> <p><b>Metode:</b> MTT assay, analisis <i>flow cytometry</i>, pengukuran ROS (konversi DCFH2-DA menjadi spesies fluoresens oleh ROS intraseluler), pengukuran TBARS, pengukuran GSH (<i>colorimetric assay</i>)</p> <p><b>Parameter:</b> Viabilitas sel, kematian sel, konsentrasi ROS, lipid peroksidasi, dan konsentrasi GSH</p>	<p>EGCG 50, 100, 150, dan 200 µM dan L-DOPA 100 dan 150 µM selama 24 jam</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Tidak ada penurunan viabilitas sel secara signifikan pada pemberian EGCG</b> dengan konsentrasi 50, 100, 150, dan 200 µM, sedangkan pada kelompok terapi tunggal L-DOPA terdapat penurunan viabilitas sel tergantung konsentrasi (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> <li>2. <b>Pemberian EGCG (100 µM) dan L-DOPA (150 µM) bersamaan menunjukkan adanya penurunan sel apoptosis</b> secara bermakna dibandingkan terapi tunggal L-DOPA (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> <li>3. <b>Terdapat penurunan produksi ROS secara signifikan</b> (1,5 kali lipat) pada sampel dengan peningkatan ROS (2 kali lipat) akibat induksi L-DOPA yang sebelumnya telah diberi EGCG (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> <li>4. <b>Produksi TBARS pada kelompok terapi L-DOPA (150 µM) menunjukkan peningkatan signifikan. Intervensi EGCG (100 µM) sebelum terapi L-DOPA menghambat produksi TBARS</b> (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> <li>5. <b>Pemberian EGCG (100 µM) sebelum terapi L-DOPA menunjukkan peningkatan kadar GSH secara signifikan</b> dibandingkan terapi tunggal L-DOPA.</li> </ol>
De Pace, <i>et al.</i> , 2013	<p><i>Human estrogen receptor-positive</i> MCF7 dalam medium Eagle's minimum essential medium yang mengandung 10% fetal bovine serum, bovine insulin 0.01 mg/mL, penicilin 100 unit/mL dan streptomycin 0.1 mg/mL pada suhu 37°C dan 5% CO<sub>2</sub>.</p>	<p><b>Desain studi:</b> Eksperimental <i>In Vitro</i></p> <p><b>Metode:</b> Dialysis dan fluorescent microscopy</p> <p><b>Parameter:</b> Stabilitas EGCG, <i>controlled-release property</i>, <i>cellular EGCG content</i></p>	<p>LIPO-EGCG dan CSLIPO-EGCG</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 90% <i>native</i> EGCG terdegradasi setelah inkubasi 12 jam pada suhu 22°C namun <b>dengan mikroenkapsulasi LIPO dan CSLIPO hanya 10% kandungan EGCG yang terdegradasi</b> (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> <li>2. Setelah 2 jam <i>native</i> EGCG akan terdisolusi sebesar 208.7 µg namun <b>dengan mikroenkapsulasi LIPO dan CSLIPO, EGCG hanya akan terdisolusi berturut-turut sebesar 26.46 dan 25,02 µg</b> (<math>p &lt; 0,01</math>).</li> <li>3. Kandungan <b>EGCG termikroenkapsulasi LIPO dan CSLIPO dalam sel target</b></li> </ol>

				<b>berturut-turut sebesar 0,4 dan 0,9 µg/mg protein (<math>p &lt; 0,01</math>) dibandingkan dengan <i>native</i> EGCG (0,1 µg/mg protein).</b>
Zou, <i>et al.</i> , 2014	Tidak ada kultur, tetapi menggunakan SIF	<b>Desain studi:</b> Eksperimental <i>In Vitro</i> <b>Metode:</b> <i>Dilution method, ethanol injection-DHPM method, SIF incubating, FRAP assays</i> <b>Parameter:</b> Stabilitas EGCG dan kandungan antioksidan pada EGCG	ES dengan pepsin dan EN dengan pepsin	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Stabilitas EGCG menurun 94,5% setelah melalui metode inkubasi SIF selama 1,5 jam dengan dan tanpa pancreatin. Namun pada <b>EGCG termikroenkapsulasi nanoliposome, stabilitas EGCG hanya menurun sebesar 48,7% (<math>p &lt; 0,05</math>).</b></li> <li>2. Kandungan antioksidan pada EGCG menurun sebesar <math>23.2 \pm 0,9 \mu\text{g/L}</math> setelah melalui metode inkubasi SIF dengan pancreatin selama 3 jam. Namun <b>dengan metode mikroenkapsulasi, kandungan antioksidan EGCG hanya menurun sebesar <math>13,6 \pm 0,1 \mu\text{g/L}</math> (<math>p &lt; 0,05</math>).</b></li> </ol>
<b>Keterangan:</b> 5-hydroxyindoleacetic-acid (5-HIAA), Serotonin (5-HT), 6-hydroxydopamine (6-OHDA/OHDA), EGCG encapsulated chitosan coated nanoliposome (CSLIPO-EGCG), Dopamine (DA), Dynamic High Pressure Microfluidization (DHPM), 3-dihydroxyphenylacetic-acid (DOPAC), Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), EGCG solution (ES), EGCG nanoliposome (EN), Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP), Glutathione (GSH), Homovanillic Acid (HVA), Interleukin-6 (IL-6), Levodopa (L-DOPA), EGCG encapsulated nanoliposome (LIPO-EGCG), Lipopolysaccharide (LPS), 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), Phosphorylated Akt Strain (p-Akt), Phosphorylated Glycogen Synthase Kinase 3 $\beta$ (p-GSK-3 $\beta$ ), Phosphorylated Mammalian Target of Rapamycin (p-mTOR), quantitative real-time PCR (qRT-PCR), Reactive Oxidative Species (ROS), Sprague Dawley (SD), Simulated Intestinal Fluid (SIF), Thiobarbituric Acid-Reacting Substances (TBARS), Tyrosin hydroxylase (TH+), Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )				

### EFEKTIVITAS EGCG SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN PARKINSON SECARA *IN VITRO*

Terdapat dua studi *in vitro* yang membahas penggunaan EGCG sebagai agen pencegahan penyakit parkinson.<sup>[7,10]</sup> Berdasarkan hasil tinjauan, EGCG terbukti efektif dalam mencegah penyakit parkinson secara *in vitro* melalui beberapa jalur.<sup>[7,10]</sup> EGCG ditemukan dapat menurunkan apoptosis neuron, meningkatkan atau mempertahankan viabilitas sel, dan menurunkan proses inflamasi.<sup>[7,10]</sup> EGCG juga ditemukan memiliki kemampuan menurunkan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) intrasel dan meningkatkan antioksidan seperti *glutathione* (GSH) sehingga dapat menurunkan apoptosis dan inflamasi.<sup>[7,10]</sup>

Studi yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2015) menunjukkan bahwa kultur sel yang diberi EGCG 50 dan 100 µM selama dua jam sebelum diinduksi 6-hydroxydopamine (6-OHDA) 100 µM selama enam jam menunjukkan penurunan tingkat kematian sel berturut-turut sebanyak 31% dan 55% dibandingkan kontrol ( $p < 0,0001$ ).<sup>[10]</sup> Studi ini juga menunjukkan bahwa kelompok sel intervensi mengalami peningkatan viabilitas dan penurunan proses inflamasi.<sup>[10]</sup> Dalam studi ini, pemberian EGCG sebelum diinduksi 6-OHDA terbukti secara signifikan meningkatkan jumlah sel TH+, ekspresi mRNA Fpn1 dan Tfr1 serta menurunkan ekspresi mRNA DMT1+IRE, *H-ferritin*, dan Tfr2 sehingga proses inflamasi dapat ditekan.<sup>[10]</sup>

Pada studi Myung-Yul *et al.* (2013), kelompok intervensi diberikan EGCG sebelum diberikan terapi levodopa (L-DOPA)<sup>[7]</sup>. Studi tersebut menunjukkan bahwa terapi kombinasi EGCG dan L-DOPA tidak

menyebabkan penurunan viabilitas sel secara signifikan.<sup>[7]</sup> Pemberian terapi kombinasi ini terbukti dapat menurunkan apoptosis neuron, meningkatkan antioksidan GSH, serta menurunkan produksi ROS dan *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) yang ditemukan meningkat pada terapi tunggal L-DOPA.<sup>[7]</sup> Hal ini menunjukkan bahwa EGCG dapat mencegah terjadinya efek samping peningkatan ROS dan TBARS pada terapi L-DOPA.<sup>[7]</sup>

### EFEKTIVITAS EGCG SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN PARKINSON SECARA *IN VIVO*

Terdapat enam studi *in vivo* mengenai penggunaan EGCG sebagai agen pencegahan penyakit parkinson.<sup>[11-16]</sup> Berdasarkan hasil tinjauan, EGCG terbukti dapat mencegah penyakit parkinson secara *in vivo* dengan berbagai mekanisme.<sup>[11-16]</sup> EGCG terbukti dapat menurunkan protein karbonil dan  *$\alpha$ -synuclein*, menurunkan lesi neuron nigrostriatal, mencegah proses inflamasi, menurunkan ROS dan TBARS, meningkatkan antioksidan, mencegah apoptosis, memperbaiki kadar *neurotransmitter* pengatur gerakan motorik, serta meregulasi beberapa gen pengatur proliferasi seperti *mammalian Target of Rapamycin Kinase* (mTOR), *Ak strain Transforming* (AKT), dan *Glycogen Synthase Kinase-3 $\beta$*  (GSK-3 $\beta$ ).<sup>[11-16]</sup> Berbagai mekanisme tersebut pada akhirnya akan menyebabkan perbaikan gejala parkinson pada hewan coba.

Beberapa studi menunjukkan bahwa EGCG dapat menurunkan kadar protein karbonil dan  *$\alpha$ -synuclein* yang berperan dalam patogenesis parkinson serta meningkatkan kadar neurotransmitter

pengatur gerakan motorik.<sup>[12,15,16]</sup> Studi Xu *et al.* (2017) yang menunjukkan bahwa pemberian EGCG 25 mg/kgBB dapat menurunkan kadar protein karbonil sebesar 30% ( $p < 0,05$ ) dan studi Zhou *et al.* (2019) menunjukkan adanya penurunan kadar  $\alpha$ -synuclein pada kelompok intervensi dibandingkan kelompok kontrol ( $p < 0,01$ ).<sup>[12,15]</sup> Sementara itu studi Xu *et al.* (2017) juga menunjukkan kemampuan EGCG dalam meningkatkan kadar *dopamine* (DA) *striatum* sebesar 38% ( $p < 0,05$ ).<sup>[12]</sup> Sejalan dengan studi sebelumnya, studi Tseng *et al.* (2019) menunjukkan adanya penurunan kadar DA, *norepinephrine* (NE), *serotonin* (5-HT), dan 5-*hydroxyindoleacetic-acid* (5-HIAA) serta peningkatan kadar 3-*dihydroxyphenylacetic-acid* (DOPAC) dan *homovanillic acid* (HVA) dapat kembali normal dengan pemberian EGCG 100 mg/kg dan 300 mg/kg ( $p < 0,001$ ).<sup>[12,16]</sup>

Efek antiparkinson dari EGCG juga diperantarai melalui efek antiinflamasi.<sup>[11,14]</sup> Berdasarkan studi Cheng *et al.* (2021), kelompok intervensi mengalami penurunan lesi nigrostriatal 40% ( $p < 0,05$ ).<sup>[11]</sup> Studi ini juga menyebutkan bahwa kelompok intervensi mengalami penurunan proses inflamasi yang ditunjukkan oleh penurunan kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ).<sup>[11]</sup> Temuan ini didukung oleh studi Zhou *et al.* (2018) yang menunjukkan bahwa pemberian EGCG 50 mg/kgBB menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-6 sebesar 30% ( $p < 0,05$ ).<sup>[14]</sup> Lebih lanjut, studi ini membuktikan bahwa EGCG juga dapat menurunkan inflamasi melalui peningkatan rasio CD3+CD4+ banding CD3+CD8+ sebesar 47% pada pemberian EGCG 50 mg/kgBB ( $p < 0,05$ ).<sup>[14]</sup>

Efek antiinflamasi yang dimiliki EGCG semakin kuat karena EGCG juga mampu mengintervensi pembentukan ROS dan meningkatkan antioksidan.<sup>[15,16]</sup> Hal ini didukung oleh studi Tseng *et al.* (2019) yang membuktikan bahwa pemberian EGCG menghambat pembentukan ROS (*nitric oxide* [NO]) dan TBARS ( $175 \pm 7$   $\mu\text{g/ml}$  dan  $56.4 \pm 5.4$  dengan EGCG 100 mg/kg;  $164.4 \pm 7.8$   $\mu\text{g/ml}$  dan 38.6 dengan EGCG 300 mg/kg;  $p < 0,001$ ) serta meningkatkan kadar antioksidan (GSH, *superoxide dismutase* [SOD], dan *catalase* [CAT]) pada kelompok *rotenone* (ROT) secara signifikan ( $p < 0,001$ ).<sup>[16]</sup> Penurunan ROS dan peningkatan antioksidan menurunkan apoptosis sel.<sup>[15,16]</sup> Studi Zhou *et al.* (2019) menunjukkan bahwa pemberian EGCG 50 mg/kgBB menurunkan jumlah sel apoptosis sebesar 67% ( $p < 0,01$ ).<sup>[15]</sup> Temuan ini selaras dengan studi Tseng *et al.* (2019) yang menunjukkan bahwa apoptosis sel *striatal* dapat dihambat dengan pemberian EGCG 100 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB ( $p < 0,001$ ).<sup>[16]</sup> Selain itu, EGCG juga dapat menurunkan sel apoptosis melalui peningkatan gen regulator proliferasi sel, seperti mTOR, Akt, dan GSK-3 $\beta$ .<sup>[15]</sup>

#### POTENSI EGCG TERMIKOENKAPSULASI NANOLIPOSOME SEBAGAI UPAYA PENCEGAHAN PENYAKIT PARKINSON

*Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) merupakan turunan utama senyawa *catechin* yang terdapat di dalam teh hijau dan memiliki peranan cukup penting dalam mencegah terjadinya penyakit parkinson.<sup>[7]</sup> EGCG telah diketahui memiliki efek antioksidan, *iron chelator*, anti inflamasi, anti apoptosis, dan penghambat terbentuknya akumulasi  $\alpha$ -synuclein

serta dapat mencegah terjadinya degradasi neuron DA di *substantia nigra pars compacta*.<sup>[15]</sup> Selain itu, EGCG juga memiliki beberapa keunggulan, yaitu dapat menembus sawar darah-otak dengan mudah sehingga menjadikannya agen potensial dalam mencegah terjadinya penyakit parkinson dan tidak menimbulkan efek toksik jika diberikan bersamaan dengan L-DOPA, baku emas terapi parkinson saat ini.<sup>[7,15]</sup> Bahkan, terapi kombinasi L-DOPA dan EGCG dapat mencegah sitotoksitas yang merupakan efek samping L-DOPA, melalui penurunan TBARS dan ROS serta peningkatan GSH dengan efikasi yang lebih baik dibandingkan terapi tunggal L-DOPA.<sup>[7]</sup>

Agregat  $\alpha$ -synuclein merupakan penyebab utama timbulnya penyakit parkinson.<sup>[17]</sup> Pada proses agregasi  $\alpha$ -synuclein terdapat beberapa bentuk *intermediate* seperti oligomer, *amyloid fibril*, dan *fibril*. Oligomer  $\alpha$ -synuclein diketahui sebagai bentuk yang paling toksik bagi sel neuron.<sup>[17]</sup> Mekanisme agregat  $\alpha$ -synuclein dalam menginduksi neurotoksisitas diantaranya dengan mengubah permeabilitas membran sel, memicu kebocoran lisosom, merusak fungsi mitokondria, dan mengganggu pembentukan *cytoskeletal polymer* sehingga menyebabkan kematian neuron.<sup>[17]</sup> Pemberian EGCG dapat mengurangi efek toksik dari oligomer  $\alpha$ -synuclein dengan cara mengubah jalur agregasi monomer  $\alpha$ -synuclein menjadi *unstructured nontoxic oligomers* dan mengimobilisasi pergerakan dari ujung C-terminal oligomer  $\alpha$ -synuclein sehingga mencegah terjadinya kematian sel neuron.<sup>[17]</sup> Selain itu, EGCG dapat mencegah apoptosis neuron DA melalui peningkatan fosforilasi Akt, mTOR, dan GSK-3 $\beta$  yang berperan dalam regulasi proliferasi dan mencegah apoptosis sel neuron dopamin, serta meningkatkan senyawa antioksidan (GSH, SOD, dan CAT) sehingga menurunkan ROS (NO), TBARS, serta inflamasi.<sup>[7,10,14-16]</sup>

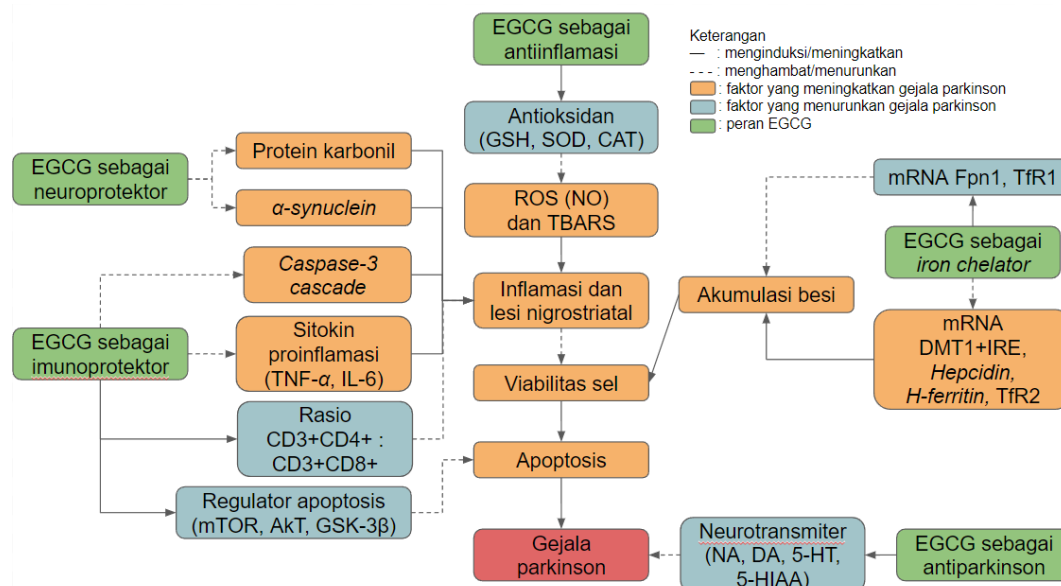
Selain mengurangi apoptosis, EGCG juga dapat berperan sebagai antiinflamasi dengan meningkatkan rasio CD3+CD4+ banding CD3+CD8+, menurunkan sitokin proinflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6), menurunkan *caspase-3 cascade*, dan menurunkan akumulasi besi intrasel neuron.<sup>[10,14,16]</sup> EGCG sebagai neuroprotektor, *iron chelator*, dan antioksidan berperan penting dalam meningkatkan ekspresi mRNA Fpn1 dan TfR1 serta menurunkan ekspresi mRNA DMT1+IRE, *hepcidin*, *ferritin* dan TfR2 sehingga neurodegenerasi akibat akumulasi besi intrasel yang berlebih dapat dicegah.<sup>[10]</sup>

Pada parkinson, terjadi penurunan kadar DA, NE, 5-HT, dan 5-HIAA, serta peningkatan DOPAC dan HVA.<sup>[16]</sup> Temuan ini menunjukkan bahwa DA didegradasi menjadi metabolitnya, DOPAC dan HVA, pada parkinson.<sup>[16]</sup> Hal ini menyebabkan DA tidak bekerja optimal dalam mengatur keseimbangan di basal ganglia.<sup>[16]</sup> Sementara itu, neurotransmitter lain yang berperan penting dalam koordinasi pergerakan juga tereduksi. Hal inilah yang menyebabkan gejala parkinson muncul. Namun, EGCG terbukti dapat meningkatkan DA, NE, 5-HT, dan 5-HIAA, serta menurunkan DOPAC dan HVA sehingga menghambat progresivitas parkinson.<sup>[12,16]</sup>

Di samping keunggulan EGCG yang begitu besar ternyata EGCG memiliki suatu kelemahan, yaitu ia akan menjadi tidak stabil dan mudah terdegradasi saat melalui lingkungan dengan pH

netral ataupun sedikit alkali seperti pada usus halus.<sup>[9]</sup> Maka dari itu, untuk meningkatkan bioavailabilitasnya, dibutuhkan suatu agen penghantar yang baik, salah satunya melalui metode mikroenkapsulasi *nanoliposome*.<sup>[9]</sup> *Nanoliposome* merupakan *vesicle spheris bilayer* yang terbentuk dari dispersi lipid polar dalam pelarut *aqueous* dan berukuran kurang dari 100 nm.<sup>[9,18]</sup> Terdapat dua studi yang membahas mengenai penggunaan mikroenkapsulasi *nanoliposome* sebagai agen

penghantar EGCG perora.<sup>[9,18]</sup> Studi yang dilakukan oleh De Pace *et al.* (2014) dan Zou *et al.* (2013) menunjukkan bahwa teknik mikroenkapsulasi menggunakan *nanoliposome* dapat menurunkan konsentrasi EGCG yang terdegradasi, mempertahankan stabilitas dan kandungan antioksidan EGCG walau disimpan dalam jangka waktu lama, meningkatkan absorpsi EGCG, serta dapat diproduksi dalam jumlah besar.<sup>[9,18]</sup>



**Gambar 2.** Peran EGCG dalam Menurunkan Progresivitas Penyakit Parkinson .

## KESIMPULAN

EGCG merupakan agen yang terbukti aman dan efektif dalam mencegah penyakit parkinson. Teknik mikroenkapsulasi *nanoliposome* dapat meningkatkan bioavailabilitas dan stabilitas EGCG secara *in vitro* maupun *in vivo* dan dapat diproduksi secara massal.

## SARAN

Diperlukan studi lanjutan mengenai penggunaan EGCG termikroenkapsulasi *nanoliposome* sebagai upaya pencegahan penyakit parkinson.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dorsey ER, Sherer T, Okun MS, Bloem BR. The emerging evidence of the Parkinson pandemic. *J Parkinsons Dis.* 2018;8(s1):S3–8.
- Singh NA, Mandal AKA, Khan ZA. Potential neuroprotective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Nutr J* [Internet]. 2016;15(1):1–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12937-016-0179-4>
- Tan LCS. Epidemiology of parkinson's disease. *Neurol Asia.* 2013;18(3):231–8.
- Rocha EM, De Miranda B, Sanders LH. Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2018;109:249–57.
- Fayyad M, Salim S, Majbour N, Erskine D, Stoops E, Mollenhauer B, et al. Parkinson's disease biomarkers based on  $\alpha$ -synuclein. *J Neurochem.* 2019;150(5):626–36.
- Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2017;124(8):901–5.
- Lee MY, Choi EJ, Lee MK, Lee JJ. Epigallocatechin gallate attenuates L-DOPA-induced apoptosis in rat PC12 cells. *Nutr Res Pract.* 2013;7(4):249–55.
- Cerri S, Mus L, Blandini F. Parkinson's Disease in Women and Men: What's the Difference? *J Parkinsons Dis.* 2019;9(3):501–15.
- Zou L qiang, Peng S feng, Liu W, Gan L, Liu W lin, Liang R hong, et al. Improved *in vitro* digestion stability of (-)-epigallocatechin gallate through *nanoliposome* encapsulation. *Food Res Int* [Internet]. 2014;64:492–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.042>
- Chen D, Kanthasamy AG, Reddy MB. EGCG Protects against 6-OHDA-Induced Neurotoxicity in a Cell Culture Model. *Parkinsons Dis.* 2015;2015.
- Cheng CY, Barro L, Tsai ST, Feng TW, Wu XY, Chao CW, et al. Epigallocatechin-3-gallate-loaded liposomes favor anti-inflammation of microglia cells and promote neuroprotection. *Int J Mol Sci.* 2021;22(6):1–15.



12. Xu Q, Langley M, Kanthasamy AG, Reddy MB. Epigallocatechin Gallate has a neurorescue effect in a mouse model of Parkinson disease. *J Nutr*. 2017;147(10):1926–31.
13. Xu Y, Xie M, Xue J, Xiang L, Li Y, Xiao J, et al. EGCG ameliorates neuronal and behavioral defects by remodeling gut microbiota and TotM expression in *Drosophila* models of Parkinson's disease. *FASEB J*. 2020;34(4):5931–50.
14. Zhou T, Zhu M, Liang Z. (-)-Epigallocatechin-3-gallate modulates peripheral immunity in the MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. *Mol Med Rep*. 2018;17(4):4883–8.
15. Zhou W, Chen L, Hu X, Cao S, Yang J. Effects and mechanism of epigallocatechin-3-gallate on apoptosis and mTOR/AKT/GSK-3 $\beta$  pathway in substantia nigra neurons in Parkinson rats. *Neuroreport*. 2019;30(2):60–5.
16. Tseng HC, Wang MH, Chang KC, Soung HS, Fang CH, Lin YW, et al. Protective Effect of (-)-Epigallocatechin-3-gallate on Rotenone-Induced Parkinsonism-like Symptoms in Rats. *Neurotox Res*. 2020;37(3):669–82.
17. Xu Y, Zhang Y, Quan Z, Wong W, Guo J, Zhang R, et al. Epigallocatechin Gallate (EGCG) Inhibits Alpha-Synuclein Aggregation: A Potential Agent for Parkinson's Disease. *Neurochem Res* [Internet]. 2016;41(10):2788–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11064-016-1995-9>
18. De Pace RCC, Liu X, Sun M, Nie S, Zhang J, Cai Q, et al. Anticancer activities of (-)-epigallocatechin-3-gallate encapsulated *nanoliposomes* in MCF7 breast cancer cells. *J Liposome Res*. 2013;23(3):187–96.
19. Spagnuolo C, Moccia S, Russo GL. Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2018;153:105–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.09.001>