

**RINGKASAN****MEKANISME (-)-EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE (EGCG)  
TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) DALAM MENGHAMBAT  
KANDIDIASIS ORAL PADA KONDISI IMUNOKOMPROMAIS**

Kandidiasis oral adalah infeksi yang diakibatkan jamur *Candida* spesies (*Candida sp.*) yang tumbuh komensal di rongga mulut dan bersifat patogen oportunistik. Etiologi kandidiasis oral yang terbanyak (80%) adalah *Candida albicans* (*C. albicans*). *C. albicans* yang berubah menjadi virulen pada rongga mulut berhubungan erat dengan adanya defek pada sistem imun, yaitu kondisi imunokompromais.

Prevalensi kandidiasis oral cenderung meningkat (20-75%) karena meningkatnya populasi penderita imunokompromais yang menderita kandidiasis oral sebesar 50-95% (Diabetes Mellitus, penggunaan obat imunosupresi atau antibiotik dalam waktu lama, *Human Immunodeficiency Virus* (HIV)/ *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS), penerima transplan organ, dan hiposalivasi). Di samping hal tersebut, peningkatan prevalensi kandidiasis oral juga dapat disebabkan karena banyaknya kasus resistensi terhadap obat anti jamur yang dipicu oleh banyaknya penggunaan obat anti jamur golongan *azole* pada kandidiasis oral sebesar 32 - >50%. Hal ini menyebabkan peningkatan kegagalan terapi obat anti jamur (*azole*) sehingga diperlukan terapi komplementer untuk meningkatkan efektivitas obat anti jamur. Terapi komplementer tersebut antara lain dengan memanfaatkan obat-obatan yang berbahan dasar herbal, salah satunya teh hijau (*Camellia sinensis*) yang dinyatakan aman untuk dikonsumsi atau

*generally recognized as safe* (GRAS) oleh *Food and Drug Administration Safety* (FDA) dari Amerika Serikat.

Pada kondisi tertentu, terutama kondisi imunokompromais, upaya eliminasi kehadiran *Candida sp.* tidak mampu dikendalikan oleh respons imun sehingga memicu terjadinya infeksi oleh *Candida sp.* yaitu kandidiasis oral. Infeksi semula bersifat lokal yang cenderung menuju ke arah sistemik dan dapat memperparah keadaan penderita. Bila hal ini tidak diantisipasi dan dikendalikan, maka akan menjadi kandidiasis sistemik dengan rerata mortalitas sekitar 30-50%. Studi terkini menunjukkan bahwa *Dendritic cell-associated C-type lectin-2* (Dectin-2) sebagai *pattern-recognition receptor* (PRR) lebih berperan penting pada respons imun nonspesifik protektif pada *host* terhadap jamur, yang berfungsi untuk mengenali *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) yaitu  $\alpha$ -mannans pada *C. albicans* dalam bentuk hifa, daripada PRR lainnya. Pengenalan Dectin-2 terhadap  $\alpha$ -mannans memegang peranan penting dalam memicu respons imun nonspesifik yang selanjutnya memicu respons imun spesifik pada *host* melalui aktivitas Th17.

Teh hijau sejauh ini dikenal mempunyai banyak manfaat untuk kehidupan manusia, salah satunya sebagai imunomodulator dan anti jamur. Komponen polifenol yang utama (50-80%) dan paling poten dari teh hijau adalah (-)-*Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG). Sampai saat ini mekanisme EGCG teh hijau dalam menghambat terjadinya kandidiasis oral secara molekuler masih belum dapat dijelaskan secara tuntas.

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk menganalisis mekanisme EGCG teh hijau dalam menghambat kandidiasis oral

pada kondisi imunokompromais melalui peningkatan ekspresi Dectin-2 dan ekspresi IL-23, peningkatan ekspresi ROR $\gamma$ t sehingga terjadi peningkatan ekspresi IL-17A, peningkatan kadar IL-17A, ekspresi  $\beta$ -defensin 2 dan penurunan sel yang terinfeksi *C. albicans*.

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental* laboratoris dengan rancangan *randomized post test only control group design* dengan menggunakan 28 tikus Wistar jantan dan rerata usia 3 bulan dengan berat badan di antara 150-200 gram. Tikus secara *random allocation* dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Perlakuan dengan EGCG dosis 0, 1, 2, dan 4 mg/kgBB/hari selama 8 hari. Penelitian ini dilakukan melalui empat tahapan, yaitu (1) membuat kondisi imunokompromais pada semua kelompok tikus Wistar, (2) inokulasi *C. albicans* pada rongga mulut semua kelompok tikus Wistar, (3) pemberian EGCG teh hijau pada kelompok perlakuan, (4) analisis mekanisme pemberian EGCG teh hijau terhadap semua kelompok tikus dalam kondisi imunokompromais dan terinokulasi *C. albicans* berdasarkan ekspresi Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, ekspresi IL-17A, kadar IL-17A, ekspresi  $\beta$ -defensin 2, dan sel yang terinfeksi *C. albicans*.

Hasil penelitian melalui pemeriksaan imunohistokimia dan ELISA menunjukkan bahwa pemberian EGCG teh hijau dapat meningkatkan ekspresi Dectin-2 sebagai reseptor  $\alpha$ -mannans secara bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol ( $p=0,000$ ) pada hambatan kandidiasis oral dengan kondisi imunokompromais. Demikian pula peningkatan ekspresi IL-23 ( $p=0,000$ ), peningkatan ekspresi ROR $\gamma$ t ( $p=0,000$ ), peningkatan ekspresi IL-17A ( $p=0,000$ ), peningkatan kadar IL-17A ( $p=0,000$ ), peningkatan ekspresi  $\beta$ -defensin 2

( $p=0,000$ ), dan penurunan sel yang terinfeksi *C. albicans* ( $p=0,000$ ). Melalui uji regresi didapatkan bahwa EGCG teh hijau terbukti menghambat kandidiasis oral pada kondisi imunokompromais melalui peningkatan ekspresi Dectin-2 sebagai reseptor  $\alpha$ -mannans secara bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol ( $p=0,000$ ), peningkatan ekspresi IL-23 ( $p=0,000$ ), peningkatan ekspresi ROR $\gamma$ t ( $p=0,000$ ), peningkatan ekspresi IL-17A ( $p=0,000$ ), peningkatan kadar IL-17A ( $p=0,000$ ), peningkatan ekspresi  $\beta$ -defensin 2 ( $p=0,000$ ), dan penurunan sel yang terinfeksi *C. albicans* ( $p=0,000$ ).

Kesimpulan penelitian ini adalah EGCG teh hijau terbukti menghambat kandidiasis oral pada kondisi imunokompromais melalui peningkatan ekspresi Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, kadar IL-17A, ekspresi  $\beta$ -defensin 2, dan penurunan sel yang terinfeksi *C. albicans*. Dosis efektif EGCG teh hijau pada tiap-tiap variabel jalur tersebut adalah 2 mg/kgBB/hari.  $\beta$ -defensin 2 merupakan faktor yang paling dominan terhadap hambatan kandidiasis oral setelah pemberian EGCG teh hijau pada kondisi imunokompromais.

## SUMMARY

### **MECHANISM OF (-)-EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE (EGCG) GREEN TEA (*Camellia sinensis*) IN INHIBITING ORAL CANDIDIASIS IN IMMUNOCOMPROMISED CONDITION**

Oral candidiasis is an infection caused by commensal fungi of *Candida sp.* in the oral cavity that serves as an opportunistic pathogen. The most frequent (80%) etiology of oral candidiasis is *Candida albicans* (*C. albicans*). *C. albicans* becomes virulent in the oral cavity and is related to the defect on the immune system, namely immunocompromised conditions.

The prevalence of oral candidiasis tends to increase (20-75%) due to the increasing population of immunocompromised patients who suffered oral candidiasis as high as 50-95% (Diabetes Mellitus, immunosuppressant drugs or long term antibiotics usage, Human Immunodeficiency Virus (HIV)/Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), transplant organ recipients, and hyposalivation). Aside from those, the increased prevalence of oral candidiasis is also induced by the high number of resistant cases to anti fungal medications (32- >50%). All of those lead to the increasing failure of anti fungal medications (azole) and therefore complements treatments are needed to enhance the effectivity of anti fungal drugs. One of the complement therapy is herbal drugs, including green tea (*Camellia sinensis*) which is already declared as safe for consumption or generally recognized as safe (GRAS) by the Food and Drug Administration Safety (FDA) of United States of America.

In certain conditions, particularly in immunocompromised conditions, immune response is unable to eliminate *Candida sp.* and induces *Candida sp.* infection of oral candidiasis. This infection is initially localized and then generalized into systemic infection that worsens the patient's condition. When this process is not well anticipated and controlled, systemic candidiasis occurs with mortality of 30-50%. Recent studies have shown that Dendritic cell-associated C-type lectin-2 (Dectin-2) as the pattern-recognition receptor (PRR) has played a more significant role on the protective non-specific immune response of the host toward the fungi in recognizing pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), including  $\alpha$ -mannans in *C. albicans* with hyphae structure, than other PRR. The recognition of  $\alpha$ -mannans by Dectin-2 is important in inducing non-specific immune response that will further induce the specific immune response in host through Th17 activity.

Green tea has been known to have many benefits for human life, including being an immunomodulator and anti fungi. The main polyphenol component (50-80%) and the most potent of green tea is (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG). The molecular mechanism of EGCG green tea inhibits oral candidiasis is not clearly determined yet up to now.

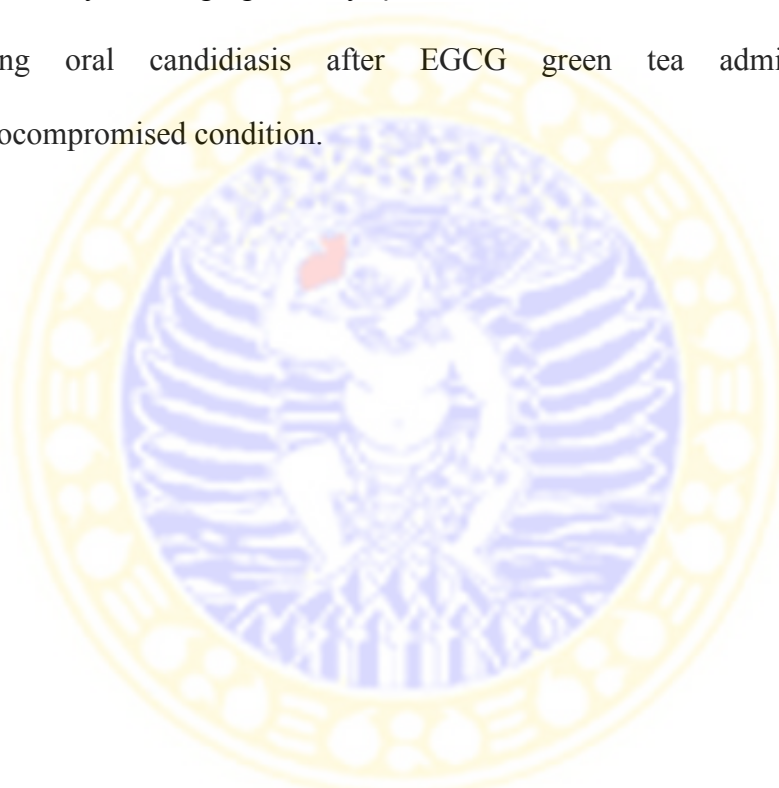
Based on the previous background, this study was aimed to analyze the mechanism of EGCG green tea in inhibiting oral candidiasis in immunocompromised conditions through the increased expression of Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, IL-17A level,  $\beta$ -defensin 2 expression, and the decreased infected cells by *C. albicans*.

This was a true laboratory experimental study with randomized post test only control group design, used 28 Wistar male rats, mean age of 3 months and body weight range was 150-200 gram. The rats were grouped into 5 groups by random allocation: 2 control and 3 intervention groups. EGCG was given with the dose of 0, 1, 2 and 4 mg/kgBW/day as the intervention for 8 days. This study was conducted through 4 stages: (1) to induce immunocompromised condition in all Wistar rat groups; (2) to inoculate *C. albicans* in the oral cavity of all Wistar rat groups; (3) to administer EGCG green tea in the intervention groups; (4) to analyze the mechanism of EGCG green tea in all immunocompromised Wistar rat groups that had been inoculated with *C. albicans* based on the expression of Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, IL-17A level,  $\beta$ -defensin 2 expressions, and the infected cells by *C. albicans*.

The result of the study by immunohistochemistry and ELISA showed that EGCG green tea administration increased expression of Dectin-2 as the  $\alpha$ -mannans receptor in the intervention groups when compared to control ( $p=0.000$ ) in inhibiting oral candidiasis in immunocompromised conditions. There were also significant increased expressions of IL-23 ( $p=0.000$ ); ROR $\gamma$ t ( $p=0.000$ ), IL-17A ( $p=0.000$ ), significant increased level of IL-17A ( $p=0.000$ ), significant increased expressions of  $\beta$ -defensin 2 ( $p=0.000$ ), and the decreased infected cells by *C. albicans* ( $p=0.000$ ). Regression test showed that EGCG green tea had proven to inhibit oral candidiasis in immunocompromised conditions through the significant increased expression of Dectin-2 as the  $\alpha$ -mannans receptor in the intervention groups when compared to control ( $p=0.000$ ), significant increased expressions of IL-23 ( $p=0.000$ ); ROR $\gamma$ t ( $p=0.000$ ), IL-17A ( $p=0.000$ ), significant increased level

of IL-17A ( $p=0.000$ ), significant increased expressions of  $\beta$ -defensin 2 ( $p=0.000$ ), and the decreased infected cells by *C. albicans* ( $p=0.000$ ).

EGCG green tea has been proven to inhibit oral candidiasis in immunocompromised conditions through the increased expression of Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, IL-17A level,  $\beta$ -defensin 2 expression, and the decreased infected cells by *C. albicans*. Effective dosage of EGCG green tea in each variable at the pathway is 2 mg/kgBW/day.  $\beta$ -defensin 2 is the most dominant factor in inhibiting oral candidiasis after EGCG green tea administration in immunocompromised condition.





## ABSTRAK

**MEKANISME (-)-EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE (EGCG)  
TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) DALAM MENGHAMBAT  
KANDIDIASIS ORAL PADA KONDISI IMUNOKOMPROMAIS**

Kandidiasis oral adalah infeksi yang diakibatkan jamur *Candida* spesies yang tumbuh komensal di rongga mulut dan bersifat patogen oportunistik, dengan etiologi terbanyak (80%) adalah *Candida albicans*. Prevalensi kandidiasis oral cenderung meningkat (20-75%) karena meningkatnya populasi penderita imunokompromais yang menderita kandidiasis oral (50-95%) dan kasus resistensi terhadap obat anti jamur (32 - >50%). Oleh karena itu diperlukan terapi komplementer untuk meningkatkan efektivitas obat anti jamur. Bahan herbal dengan khasiat tersebut adalah teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan komponen polifenol yang utama dan komponen paling poten dari teh hijau adalah EGCG (50-80%). Sampai saat ini mekanisme EGCG teh hijau dalam menghambat terjadinya kandidiasis oral secara molekuler masih belum dapat dijelaskan secara tuntas. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis mekanisme EGCG teh hijau dalam menghambat kandidiasis oral pada kondisi imunokompromais melalui peningkatan ekspresi Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, kadar IL-17A, ekspresi  $\beta$ -defensin 2, dan penurunan sel yang terinfeksi *C. albicans*. Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experimental* laboratoris dengan rancangan *randomized post test only control group design*, menggunakan tikus Wistar jantan dengan rerata usia 3 bulan. Tikus secara *random allocation* dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Perlakuan dengan EGCG dosis 0, 1, 2, dan 4 mg/kgBB/hari selama 8 hari. Hasil penelitian melalui pemeriksaan imunohistokimia dan ELISA menunjukkan bahwa pemberian EGCG teh hijau dapat meningkatkan ekspresi Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, kadar IL-17A, ekspresi  $\beta$ -defensin 2, dan menurunkan sel yang terinfeksi *C. albicans* pada hambatan kandidiasis oral dengan kondisi imunokompromais. Kesimpulan penelitian ini adalah EGCG teh hijau terbukti secara signifikan dapat menghambat kandidiasis oral pada kondisi imunokompromais melalui peningkatan ekspresi Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, kadar IL-17A, ekspresi  $\beta$ -defensin 2 dan penurunan sel yang terinfeksi *C. albicans*. Dosis efektif EGCG teh hijau adalah 2 mg/kgBB/hari.  $\beta$ -defensin 2 merupakan faktor yang paling dominan terhadap hambatan kandidiasis oral setelah pemberian EGCG teh hijau pada kondisi imunokompromais.

**Kata Kunci:** (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), teh hijau (*camellia sinensis*), hambatan kandidiasis oral, kondisi imunokompromais

## ABSTRACT

### MECHANISM OF (-)-EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE (EGCG) GREEN TEA (*Camellia sinensis*) IN INHIBITING ORAL CANDIDIASIS IN IMMUNOCOMPROMISED CONDITION

Oral candidiasis is an infection caused by commensal fungi of *Candida* species in the oral cavity that serves as an opportunistic pathogen with *Candida albicans* (*C. albicans*) as the most frequent (80%) etiology. The prevalence of oral candidiasis tends to increase (20-75%) due to the increasing population of immunocompromised patients who suffered oral candidiasis (50-95%) and resistance to anti fungal (32->50%). This requires complemter treatments to enhance the effectivity of anti fungal medications. The herbal medicine with the specific effect is green tea (*Camellia sinensis*) with EGCG as the main polyphenol component and most potent (50-80%). The molecular mechanism of EGCG green tea in inhibiting oral candidiasis is not clearly determined yet up to now. The objective was to analyze the mechanism of EGCG green tea in inhibiting oral candidiasis in immunocompromised conditions through the increased expression of Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, IL-17A level,  $\beta$ -defensin 2 expression, and the decreased infected cells by *C. albicans*. The method was a true laboratory experimental study with randomized post test only control group design, using Wistar male rats with mean age of 3 months. The rats were grouped into 5 groups by random allocation: 2 control and 3 intervention groups. EGCG was given with the dose of 0, 1, 2 and 4 mg/kgBW/day as the intervention for 8 days. The result of the study by immunohistochemistry and ELISA showed that EGCG green tea administration increased expression of Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, IL-17A level,  $\beta$ -defensin 2 expression, and decreased infected cells by *C. albicans* in inhibiting oral candidiasis in immunocompromised conditions. The conclusion was EGCG green tea has been significantly proven to inhibit oral candidiasis in immunocompromised conditions through the increased expression of Dectin-2, IL-23, ROR $\gamma$ t, IL-17A, IL-17A level,  $\beta$ -defensin 2 expression, and the decreased infected cells by *C. albicans*. Effective dosage of EGCG green tea is 2 mg/kgBW/day.  $\beta$ -defensin 2 is the most dominant factor in inhibiting oral candidiasis after EGCG green tea administration in immunocompromised condition.

**Keywords:** (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), green tea (*Camellia sinensis*), inhibition of oral candidiasis, immunocompromised conditions.