

**TESIS**

**PENGARUH PEMBERIAN AIR KELAPA MUDA (*COCOS NUCIFERA L*) TERHADAP INDEKS PARASITEMIA, KADAR MALONDIALDEHYDA DAN KADAR HEMOGLOBIN PADA MALARIA**

(Studi pada mencit Swiss yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dengan *Artemisinin-based Combine Therapy* )

***THE EFFECTS OF TENDER COCONUT WATER (*COCOS NUCIFERA L*) ON PARASITEMIA INDEX, MALONDIALDEHYDE LEVELS AND HEMOGLOBIN LEVELS IN MALARIA***

(*Study in Swiss mice inoculated Plasmodium berghei ANKA with Artemisinin-based Combine Therapy*)



**Tesis**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat S2**

**Magister Ilmu Gizi**

**Mulyanti**

**22030114410005**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**Juni  
2016**

## RINGKASAN

Mekanisme anemia pada malaria melibatkan adanya peningkatan stres oksidatif sebagai akibat interaksi respon imun terhadap patogen. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan pada sel dan dapat mengganggu proses fisiologis karena adanya reaksi makromolekul intraseluler dan ekstraseluler. Peningkatan stress oksidatif teraktifasi juga oleh netrofil inang dan *degradasi* Hb dalam parasit yang berakibat pada kerusakan endotel karena adanya peningkatan permeabilitas pembuluh darah.<sup>7</sup> Stres oksidatif terjadi baik pada eritrosit normal, eritrosit terinfeksi, hasil dari siklus hidup parasit, respon imun dan penggunaan obat antimalaria yang ditandai dengan peningkatan produk *peroksidasi* lipid dan diukur melalui kadar *malonaldehyda (MDA)*.<sup>8,9</sup> Hal ini berperan dalam terjadinya peningkatan *eritrolisis* pada eritrosit terinfeksi dan yang tidak terinfeksi pada limpa, penekanan produksi *eritropoesis* oleh sumsum tulang, peningkatan eritrolisis karena siklus hidup parasit, reaksi *autoimun* dan peningkatan *fragilitas* eritrosit.<sup>10,11</sup>

Indonesia sebagai salah satu negara tropis selain endemis malaria, Indonesia menjadi salah satu negara produsen kelapa terbesar di Asia. Produksi kelapa pada tahun 2009 sebanyak 21.585.700 ton dari 61.708.358 ton total produksi kelapa dunia.<sup>18</sup> Hampir seluruh bagian dari pohon kelapa dapat dimanfaatkan termasuk airnya. Air kelapa merupakan cairan *endosperm* yang biasanya digunakan sebagai minuman alami yang esensial. Air kelapa muda (8-9 minggu) varietas kelapa hijau (*green dwarf*) mengandung fruktosa 320 µg/µL, glukosa 332 µg/µL,

sukrosa 390 µg/µL, protein 150 mg/dL, kalium 220 mg/dL, kalsium 40 mg/dL, magnesium 16 mg/dL, selenium 0,01 mg/dL, L-arginin 30 mg/dL, asam askorbat 30 mg/dL dan polifenol 3,75 mg/dL<sup>19,20</sup> Beberapa penelitian yang dilakukan, diketahui bahwa Kadar MDA lebih rendah pada tikus yang diberikan perlakuan dengan air kelapa muda dibandingkan kelompok kontrol,<sup>20</sup> pemberian air kelapa dapat menurunkan ROS intraseluler, kandungan polyphenol dan asam askorbat air kelapa hijau mempunyai kemampuan DPPH *radical free scavenging* dan efek protektif lipid melawan formasi *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS).<sup>21</sup> Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan apakah ada efektifitas air kelapa muda (*Cocos nucifera* L) terhadap penurunan indeks parasitemia, penurunan kadar *malonaldehyda* (MDA) dan peningkatan kadar Hb pada mencit strain Swiss yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA (PbA) dengan terapi *artemisinin-based combine therapy*?

Eritrosit merupakan targer utama pada infeksi oleh *Plasmodium*. Respon imun terhadap infeksi *Plasmodium* terjadi pada beberapa stadium. Pada stadium eksoeritrositer, antibodi yang menghambat masuknya sporozoit ke hepatosit dan antibodi yang membunuh sporozoit melalui opsonisasi. Eksoeritrositer intrahepatik, respon imun pada stadium ini berupa Limfosit T sitotoksik CD8+ dan antige pada stadium hepatosit seperti *Liver Stage Antigen-1* (LSA-1). Respon imun pada stadium aseksual eritrosit melibatkan antibodi yang mengaglutinasi merozoit, antibodi yang menghambat *cytoadherance*, antibodi yang menghambat pelepasan dan penetral toksin parasit. Sedangkan respon pada stadium seksual terjadi dengan mekanisme Antibodi yang membunuh gametosit, antibodi yang

menghambat fertilisasi, antibodi yang menghambat transformasi zigot menjadi ookinet, antigen/antibodi pada stadium seksual prefertilisasi (Pf-230), dan antigen/antibodi pada stadium seksual postfertilisasi (Pf-25, Pf-28).

Peningkatan stres oksidatif pada malaria terjadi karena adanya aktivasi neutrofil inang dan degranulasi hemoglobin dalam parasit. Peningkatan stress oksidatif ditandai dengan peningkatan kadar MDA sebagai biomarker adanya peningkatan radikal bebas, selain adanya peningkatan reactive oxygen species (ROS), nitric oxide (NO), reactive nitrogen species (RNS) maupun penurunan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD).<sup>43</sup> Peningkatan radikal bebas memicu peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan mengakibatkan akibat kerusakan pada endotel baik pada eritrosit maupun pada parasit. Hal ini tidak hanya berdampak pada eliminasi parasit tetapi juga dapat merugikan dengan mengakibatkan apoptosis yang tidak terkendali yang dapat mengganggu stabilitas sel terutama eritrosit dan mengakibatkan terjadinya anemia.<sup>44</sup> Anemia pada malaria disebabkan oleh beberapa faktor<sup>54</sup> antara lain yaitu penghancuran eritrosit yang mengandung parasit dan yang tidak mengandung parasit yang terjadi di limpa, penurunan usia eritrosit (*Reduced survival time*) dan gangguan dalam pembentukan eritrosit karena depresi eritropoiesis dalam sum-sum tulang, retikulosit tidak dilepaskan dalam peredaran perifer.

Pematangan eritrosit sangat bergantung pada produksi eritropoetin oleh ginjal sedangkan pada malaria terjadi penurunan aktivitas renin angiotensi aldosteron dan produksi hormon ginjal sering dijumpai pada komplikasi malaria karena adanya peningkatan *neuronal Na pump* yang mengakibatkan penurunan

aktivitas saraf simpatis.<sup>59</sup> Kandungan Kalium pada air kelapa muda sebanyak 215,8 mg /100 mL dapat membantu dalam pemenuhan Kalium. Pada penderita malaria, sering mengalami kehilangan klorida karena adanya keadaan klinis muntah dan diare, serta pelepasan klorida oleh sel darah putih pada proses fagositosis.<sup>60</sup> Selain Kalium dan Klorida, air kelapa juga mengandung Kalsium. Kalsium tidak hanya berperan dalam kesehatan tulang tetapi juga banyak peran lainnya, antara lain dalam menjaga permeabilitas membrane,<sup>61</sup> sehingga kalsium sangat dibutuhkan pada infeksi malaria karena terjadi peningkatan kerusakan membran sel darah merah. Air kelapa muda selain mengandung vitamin dan mineral, juga mengandung *DPPH free radical scavenging* yang berguna pada penderita malaria dalam meredam peningkatan radikal bebas. Air kelapa juga mengandung asam askorbat. Asam askorbat selain berperan dalam sintesis kolagen, karnitin dan neurotransmitter, juga berperan pada metabolisme mikrosomal serta mempunyai aktifitas sebagai antioksidan. Asam askorbat sebagai agen reduksi atau sebagai donor elektron pada sistem antioksidan. Asam askorbat memberikan gugus ion hydrogen pada ROS/NOS pada intraseluler.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *The Post Test Only Randomized Control Group*,<sup>65</sup> yang menggunakan 42 ekor hewan coba mencit *Strain Swiss* betina dengan berat 25-35 g dan berumur 8-10 minggu dan diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA (PbA). Variabel yang diukur adalah indeks parasitemia, kadar MDA dan kadar Hb sebagai variabel dependen Sampel dikelompokkan menjadi 6 kelompok, sebagai kelompok kontrol K(+) dan K(+)DHP, kelompok perlakuan X1, X2, X3 dan X4. Kelompok X1 dan X2

mendapat pemberian air kelapa secara oral dengan dosis 1 mL/100 g BB, sedangkan kelompok X3 dan X4 dengan dosis 2 mL/100 g BB. Pemberian air kelapa dilakukan setelah satu minggu adaptasi dan setelah satu minggu inokulasi. Inokulasi dilakukan pada hewan coba dengan injeksi intraperitoneal 0,1 ml darah yang mengandung  $10^7$  PbA. Kelompok yang mendapatkan terapi antimalaria 3 mg dihidroartemisinin dan 24 mg piperaquinin /kg BB/hari adalah kelompok K(+)DHP, X2 dan X4 diberikan pada hari keempat postinokulasi selama 3 hari. Sampel penelitian tereksklusi sebanyak 12 ekor karena tikus mati atau sampel darah mengalami lisis.

Pengambilan darah untuk pemeriksaan indeks parasitemia dari ekor mencit, sedangkan untuk pemeriksaan kadar MDA dan Hb dari sinus orbitalis. Darah dari sinus orbitalis sebanyak 1 mL diambil dibawah anestesi sedang dengan diethyl ether. Indeks eritrosit diukur dengan menghitung jumlah eritrosit terinfeksi dibandingkan dengan jumlah eritrosit dan dinyatakan dalam persen. Kadar MDA diukur dengan metode TBARS spektrofotometri dinyatakan dengan nmol/mL, sedangkan kadar Hb dianalisis dengan alat hematology analyzer dinyatakan dalam gr%. Data dianalisis dengan komputer dengan menggunakan uji normalitas Shapiro wilk, uji beda One Way Anova, multiple range Post Hoc Bonferoni dan uji korelasi Pearson.

Ada perbedaan indeks parasitemia,  $p=0.00$  dan rerata $\pm$ SB K(+)(20.46 $\pm$ 9.43), K(+)DHP (0.28 $\pm$ 0.33), X1 (14.86 $\pm$ 5.82), X2 (1.26 $\pm$ 1.94), X3 (4.40 $\pm$ 1.45) dan X4 (0.32 $\pm$ 0.40). Tidak ada perbedaan kadar MDA diantara enam kelompok dengan nilai,  $p=0.71$  dan rerata $\pm$ SB (13.07 $\pm$ 2.1112.47 $\pm$ 0.75,

13.95±1.58, 13.81±1.15, 13.37±1.33 dan 14.41±1.68). Ada beda signifikan kadar Hb dengan nilai  $p=0.001$  dan rerata±SB (8.46±1.36, 11.92±1.16, 9.92±1.77, 11.04±1.92, 11.06±0.80 and 12.80±1.16), *multiple range test* menunjukkan perbedaan pada kelompok K(+) terhadap K(+)DHP dan X4, nilai  $p < 0.05$  Indeks parasitemia dan kadar Hb berhubungan signifikan dengan nilai  $p=0.00$  and  $r = -0.724$ , sedangkan kadar MDA tidak berhubungan dengan indeks parasitemia dan kadar Hb, nilai  $p > 0.05$ . Air kelapa muda efektif untuk menurunkan indeks parasitemia dan meningkatkan kadar Hb pada mencit Swiss yang diinokulasi PbA, dengan korelasi negatif dan tidak efektif terhadap penurunan kadar MDA. Tidak ada hubungan antara kadar MDA dengan indeks parasitemia dan kadar Hb.

Pemberian air kelapa muda mempunyai pengaruh untuk menurunkan indeks parasitemia dan meningkatkan kadar Hb diduga melalui mekanisme produksi NO oleh arginin. NO memiliki efek *parasite killing* sehingga menurunkan kerusakan oksidatif pada eritrosit. Kandungan vitamin C, penolak dan aktifitas pengangkapan radikal bebas DPPH ( $IC_{50}$ ) berperan dalam keseimbangan pro dan antioksidan pada malaria