



Pengaruh Pemberian Vitamin A Terhadap Penurunan Parasitemia Mencit yang Diinfeksi Plasmodium berghei

Umi Isnaeni , Retno Sri Iswari, Nugrahaningsih Wahyu Harini

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Gedung D6 Lt.1 Jl Raya Sekaran Gunungpati Semarang Indonesia 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima Januari 2012

Disetujui Februari 2012

Dipublikasikan Mei 2012

Kata kunci: Vitamin A;
Parasitemi; Mencit Swiss
Strain; Plasmodium berghei

Abstrak

Salah satu alternatif yang dapat dikembangkan masyarakat di daerah endemis malaria adalah kesadaran untuk meningkatkan kekebalan tubuh terhadap infeksi dan penularan malaria. Vitamin A adalah salah satu vitamin yang bertindak sebagai immunostimulant. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian vitamin A dapat mengurangi parasitemia Plasmodium berghei pada Mencit Galur Swiss. Penelitian ini menggunakan 24 mencit jantan berumur 6-8 minggu, berat badan 20-30 gram dan diambil secara acak. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok. Penelitian dilakukan secara eksperimental. Dalam penelitian ini, pemberian vitamin A pengobatan dengan 3 variasi dosis yaitu 0 IU/g BB, 35 IU / g BB dan 70 IU / g BB dan kelompok kontrol negatif dengan setiap kelompok terdiri dari 6 tikus atau dengan 6 ulangan. Hasil ANOVA untuk pengobatan kelompok B, C dan D diperoleh nilai signifikan <0.001 . Hal ini berarti terdapat perbedaan yang signifikan dalam pengobatan yang diberikan. Untuk menemukan perbedaan yang signifikan kemudian dilakukan uji lanjut. Kesimpulan dalam penelitian ini adalah vitamin A mempunyai efek penurunan parasitemia pada Mencit Galur Swiss yang terinfeksi Plasmodium berghei.

Abstract

One alternative that can be developed communities in malaria endemic area is the awareness to boost immunity against infection and transmission of malaria. Vitamin A is one vitamin that acts as an immunostimulant. This study aims to determine whether administration of vitamin A can reduce the parasitemia of Plasmodium berghei in Swiss Strain Mice. This study used 24 male Swiss Strain Mice aged 6-8 weeks, 20-30 grams weight and taken at random. Mice were divided into 4 groups. Research carried out experimentally design. In this research, the provision of vitamin A treatment with 3 variations in dose were 0 IU /g BW, 35 IU /g BW and 70 IU /g BW and negative control group with each group consisting of 6 mice or with 6 replications. ANOVA results for treatment groups B, C and D obtained significant value <0.001 . It was stated there are significant differences in treatment provided. To find any significant difference then conducted further post hoc tests. Conclusions for this study was vitamin A giving effect to decreased of parasitemia in Swiss Strain Mice that Infected with Plasmodium berghei.

Pendahuluan

Plasmodium merupakan parasit penyebab malaria yang menyerang vertebrata, termasuk manusia (Harijanto 2000). Infeksi dan penularan parasit malaria pada manusia secara alami terjadi melalui tusukan probosis nyamuk Anopheles betina yang mengandung parasit malaria. Penyakit malaria sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat, dimana hampir seluruh wilayahnya merupakan daerah endemis malaria. Upaya penanggulangan penyakit malaria telah dilakukan dengan memutus rantai penularan dan mengobati penderita sedini mungkin. Usaha memutus rantai penularan antara lain dilakukan dengan penyemprotan insektisida. Di luar daerah prioritas hanya dilakukan pengobatan malaria melalui fasilitas puskesmas dan rumah sakit (Harijanto 2000). Pengobatan dengan klorokuin sebagai obat standar di lapangan masih dijumpai banyak kendala. Selain disebabkan oleh faktor manusianya, juga disebabkan oleh resistensi Plasmodium falciparum terhadap klorokuin di beberapa daerah di Indonesia. Salah satu alternatif yang dapat dikembangkan masyarakat di daerah endemis malaria adalah kesadaran untuk meningkatkan kekebalan tubuh terhadap infeksi dan penularan malaria (Harijanto 2000). Vitamin A merupakan salah satu vitamin yang berperan sebagai imunostimulan, yaitu membuat sistem imun lebih aktif dalam menjalankan fungsinya menguatkan sistem imun tubuh. Vitamin A berperan dalam mempertahankan tubuh terhadap infeksi. Pada keadaan defisiensi vitamin A, maka daya tahan tubuh terhadap infeksi akan berkurang (Inocent et al 2007). Vitamin A mempengaruhi aktivasi sel Limfosit T dan produksi sitokin. Vitamin A meningkatkan proliferasi sel Limfosit T dan kemudian akan berdiferensiasi menjadi limfosit T helper (CD4+) dan sel T sitotoksik (CD8+). Metabolit sekunder yang berupa All Trans Retinoic Acid (atRA) berperan dalam peningkatan sistem imun ini. atRA ini akan berikatan dengan Reseptor Retinoic Acid (RAR) untuk mengikat gen target (Sel T) dalam proses transkripsi sel T (Mora et al 2008). Metabolit vitamin A ini berperan dalam respon imun adaptive. Retinoic Acid meningkatkan proliferasi sel T dengan meningkatkan sekresi IL-2. Interaksi antara antigen yang dipresentasi oleh APC dengan limfosit T merupakan tahap awal respon imun seluler dan humoral. Selanjutnya sel T akan berproliferasi menjadi T

helper (CD4+) dan sel T sitotoksik (CD8+) (Papyrus 2007). Sel T helper berperan dalam stadium eritrosit, yaitu dengan cara mensekresi sitokin yang langsung menghambat pertumbuhan merozoit serta merusak sel eritrosit yang terinfeksi (Harijanto 2000). Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji efek vitamin A terhadap penurunan parasitemia mencit yang diinfeksi Plasmodium berghei.

Metode Penelitian

Penelitian infeksi Plasmodium berghei pada sampel dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta, sedangkan penelitian untuk menguji parasitemia dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit strain Swiss jantan berumur 6-8 minggu dengan berat badan 29-30 gram/ekor yang diambil secara acak. Sampel diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini dibagi secara acak menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor. Kelompok A sebagai kelompok kontrol negatif, kelompok B diinfeksi Plasmodium dan diberi Plasebo, kelompok C diinfeksi Plasmodium dan diberi vitamin A 35 IU/g BB dan kelompok D diinfeksi plasmodium dan diberi vitamin A 70 IU/g BB. Larutan vitamin A dibuat dengan cara menggerus tablet vitamin A dari IPI kemudian melarutkannya dengan pelarut minyak Zaitun. Vitamin A diberikan 1 jam sebelum infeksi sebanyak 0,5 ml menggunakan spuit berujung lengkung. Tahap selanjutnya yang perlu dilakukan adalah menyiapkan Plasmodium berghei dari sumber infeksi dan menghitung dosis pada sumber infeksi. Plasmodium berghei dari sumber infeksi disuntikkan pada masing-masing mencit percobaan dengan dosis 0,2 ml secara peritoneal. Setelah mencit diinfeksi, mencit tersebut dirawat dan dibuat apus darah tipis pada hari kedua pasca infeksi sampai ada mencit pada kontrol negatif mati. Pembuatan apus darah menggunakan prosedur pengecatan Giemsa. Apus darah yang telah dibuat kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 100 X. Data parasitemia yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji statistik One Way ANOVA untuk kelompok perlakuan B, C dan D. Untuk

mengetahui perbedaan antara kelompok A dan B maka dilakukan Uji t.

Hasil dan Pembahasan

Data rerata parasitemia Plasmodium berghei (Tabel 1) menunjukkan adanya variasi rata-rata parasitemia pada tiap kelompok perlakuan. Pada kontrol negatif yaitu yang tidak diberi vitamin A, rata-rata parasitemia cenderung meningkat setiap harinya. Adapun untuk pemberian perlakuan yang berupa vitamin A, persentase parasitemia cenderung menurun pada hari ke-6 dan hari ke-8. Kecenderungan penurunan parasitemia tersebut paling cepat terjadi pada dosis 70 IU/g BB, yang kemudian dilanjutkan dengan dosis 35 IU/g BB. Untuk kelompok yang hanya diberikan plasebo tidak mengalami kecenderungan penurunan jumlah persentase parasitemia atau dapat dikatakan pemberian plasebo tersebut tidak berpengaruh terhadap penurunan parasitemia malaria. Keadaan fisik mencit yang diberi vitamin A dengan mencit yang tidak diberi vitamin A berbeda. Mencit yang diberi vitamin A lebih giras/aktif dibandingkan mencit yang tidak diberi vitamin A. Pada kelompok kontrol negatif, kondisi fisik mencit dari hari ke hari cenderung menurun. Pada hari pertama pasca infeksi mencit- mencit tersebut masih terlihat segar, namun pada hari ke-4 sudah ada mencit yang lemas. Pada hari ke-6 mencit pada kontrol negatif sudah mulai menggigil, sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberikan vitamin A terlihat cenderung masih segar dan giras. Keadaan mencit pada kontrol negatif semakin buruk pada hari ke- 8, dimana sudah ada satu mencit yang mati dan mencit lainnya terlihat cenderung menggigil dan mata mencit tersebut terlihat pucat

(anemia). Berdasarkan analisis uji t menggunakan program SPSS menunjukkan bahwa kedua kelompok mempunyai varians yang tidak berbeda (tidak berbeda nyata). Untuk uji analisis One Way ANOVA diperoleh hasil bahwa pemberian vitamin A berpengaruh signifikan terhadap parasitemia Plasmodium pada hari ke-2, ke-4, ke-6 dan ke-8.

Keadaan fisik mencit yang diberi vitamin A dengan mencit yang tidak diberi vitamin A berbeda. Mencit yang diberi vitamin A lebih giras/aktif dibandingkan mencit yang tidak diberi vitamin A. Pada kelompok kontrol negatif, kondisi fisik mencit dari hari ke hari cenderung menurun. Pada hari pertama pasca infeksi mencit- mencit tersebut masih terlihat segar, namun pada hari ke-4 sudah ada mencit yang lemas. Pada hari ke-6 mencit pada kontrol negatif sudah mulai menggigil, sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberikan vitamin A terlihat cenderung masih segar dan giras. Keadaan mencit pada kontrol negatif semakin buruk pada hari ke- 8, dimana sudah ada satu mencit yang mati dan mencit lainnya terlihat cenderung menggigil dan mata mencit tersebut terlihat pucat (anemia).

Berdasarkan analisis uji t menggunakan program SPSS menunjukkan bahwa kedua kelompok mempunyai varians yang tidak berbeda (tidak berbeda nyata). Untuk uji analisis One Way ANOVA diperoleh hasil bahwa pemberian vitamin A berpengaruh signifikan terhadap parasitemia Plasmodium pada hari ke-2, ke-4, ke-6 dan ke-8.

Adanya signifikansi angka parasitemia setiap kelompok perlakuan dengan angka parasitemia kelompok-kelompok perlakuan lain dibandingkan dengan melakukan uji lanjut menggunakan uji statistik Post hoc.

Tabel 1 Rerata Persentase Parasitemia pada Tiap Kelompok Perlakuan

Hari Pengujian	Rata-rata Parasitemia (%)			
	A Kontrol (-)	B Plasebo	C Vitamin A 35 IU/g BB	D Vitamin A 70 IU/g BB
D2	1,47	1,43	1,02	0,4
D4	11,38	10,47	8,77	6,37
D6	13,95	13,02	6,83	4,02
D8	16,88	16,23	3,70	1,0

Berdasarkan hasil uji Post hoc diperoleh data yang berbeda untuk masing-masing perlakuan. Pada hari kedua, untuk kelompok perlakuan B (Plasebo) berbeda dengan kelompok perlakuan C (Vitamin A 35 IU/ g BB) dengan angka 0,417. Hal tersebut berarti bahwa tingkat parasitemia kelompok perlakuan B lebih besar senilai 0,417 dibandingkan dengan tingkat parasitemia pada kelompok perlakuan C. Begitu pula dengan perbedaan tingkat parasitemia pada kelompok perlakuan C (Vitamin A 35 IU/g BB) dengan kelompok perlakuan D (Vitamin A 70 IU/ g BB). Tingkat parasitemia kelompok C lebih besar 0,167

dibandingkan dengan kelompok perlakuan D. Adapun untuk perbedaan tingkat parasitemia pada kelompok D (Vitamin A 70 IU/g BB) dan kelompok perlakuan B (Plasebo) adalah sebesar -1.033. Hal tersebut berarti bahwa tingkat parasitemia kelompok D lebih kecil 1,033 dibandingkan dengan kelompok perlakuan B. Gambaran fase eritrosit pada hari ke- 2, ke-4, ke-6 dan hari ke-8 dapat dilihat pada gambar 1, 2, 3 dan 4. Fase yang dapat dilihat dari penelitian ini adalah fase trofozoit, skizon dan fase merozoit. Gambaran ini diperoleh dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 100 X menggunakan minyak emersi.



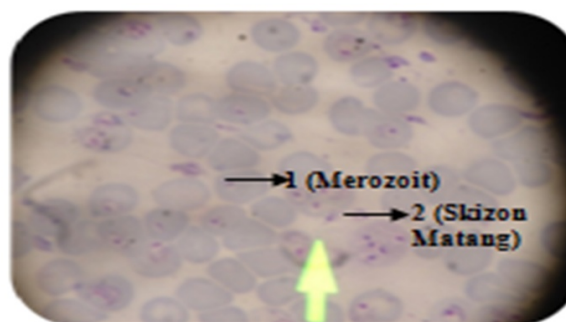
Gambar 1. Eritrosit pada Hari Ke-2



Gambar 2. Eritrosit pada Hari Ke-4



Gambar 3. Eritrosit pada Hari Ke-6



Gambar 4. Eritrosit pada Hari Ke-8

Pada penelitian ini tidak diambil data hari pertama pasca infeksi. Hal tersebut didasarkan pada penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pada hari pertama pasca infeksi belum terdapat eritrosit yang terinfeksi. Hal itu disebabkan karena Plasmodium berghei yang diinfeksi pada mencit berada pada stadium eksoeritrosit dan belum menginvasi sel-sel eritrosit (Yuliawati 2006). Selain itu juga bahwa Plasmodium berghei mempunyai siklus eritrositer 48 jam dan masa inkubasinya selama 7–12 hari. Vitamin A dalam penelitian ini berperan sebagai imunostimulan yang memperkuat sistem imun dalam tubuh. Dimana jika sistem imun tubuh terganggu maka akan mengakibatkan tubuh mudah terinfeksi. Pemberian vitamin secara oral dalam penelitian ini mempunyai hasil yang sama dengan pemberian secara imunisasi. Suatu larutan yang diberikan melalui mulut akan diserap oleh saluran cerna yang kemudian senyawa tersebut akan masuk dan diolah di dalam hati (Sadikin et al. 1994). Penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa vitamin A berperan dalam mempertahankan tubuh terhadap infeksi. Dalam keadaan defisiensi vitamin A maka daya tahan tubuh terhadap infeksi akan berkurang (Inocent et al. 2007). Vitamin A dalam penelitian ini berperan untuk memperkuat sistem imun tubuh selama terjadi infeksi. Vitamin A tersebut berpengaruh terhadap aktivasi sel Limfosit T dan produksi sitokin. Dengan adanya vitamin A maka proliferasi sel Limfosit T semakin meningkat dan kemudian akan berdiferensiasi menjadi limfosit T helper (CD4+) dan sel T sitotoksik (CD8+). Metabolit sekunder yang berupa All Trans Retinoic Acid (atRA) berperan dalam peningkatan sistem imun ini. atRA ini akan berikatan dengan Reseptor Retinoic Acid (RAR) untuk mengikat gen target (Sel T) dalam proses transkripsi sel T (Mora et al. 2008). Metabolit vitamin A ini berperan dalam respon imun adaptif. Retinoic Acid meningkatkan proliferasi sel T dengan meningkatkan sekresi IL-2. Interaksi antara antigen yang dipresentasi oleh APC dengan limfosit T merupakan tahap awal respon imun seluler dan humoral. Selanjutnya sel T akan berproliferasi menjadi T helper (CD4+) dan sel T sitotoksik (CD8+) (Papyrus 2007). Sel T helper berperan dalam stadium eritrosit, yaitu dengan cara mensekresi

sitokin yang langsung menghambat pertumbuhan merozoit serta merusak sel eritrosit yang terinfeksi (Harijanto 2000). Dengan terhambatnya pertumbuhan merozoit pada eritrosit, maka terjadi penurunan angka parasitemia pada kelompok perlakuan yang diberi vitamin A yaitu kelompok C (vitamin A 35 IU/g BB) dan kelompok perlakuan D (vitamin A 70 IU/ g BB). Berdasarkan sitokin yang dihasilkan, sel Th dibagi menjadi subset Th1 dan Th2. Th1 berperan pada awal infeksi malaria sedangkan Th2 berperan pada stadium lebih lanjut. Sel Th1 akan menghasilkan sitokin IL-2, IFN dan Tumor Necrosis Factor (TNF). Selain itu, sel Th1 juga akan mengaktifkan sel NK untuk membunuh sel yang terinfeksi melalui Antibody Dependent Cell Cytotoxicity (ADCC). Interferon dan TNF mengaktifkan makrofag dan polimorfonuklear untuk menghasilkan mediator oksidan seperti nitrit oksida (NO), hydrogen peroksida (H₂O₂), O₂ dan OH⁻ yang menghambat pertumbuhan parasit dan degenerasi parasit melalui stress oksidan (Papyrus 2007). Sedangkan sel sitotoksik (CD8+) berperan sebagai efektor langsung untuk fagositosis serta berperan dalam stadium hati (Harijanto 2000). Sel ini akan melindungi stadium hati melalui dua cara yaitu secara tidak langsung dengan mensekresi IFN- yang menghambat pembiakan parasit didalam hati dan secara langsung dengan cara merusak hati yang terinfeksi. Limfosit T akan merespon antigen dari Plasmodium yang difagosit oleh makrofag yang berikatan dengan molekul MHC kelas II ke permukaan sel. Kemudian makrofag akan memproduksi IL-1 yang selanjutnya akan mengaktifkan sel B untuk menghasilkan imunoglobulin yang berperan dalam proses opsonisasi, yang meningkatkan aktivitas fagositosis. Parasit intraseluler akan menstimulasi makrofag untuk memproduksi IL-12 yang akan mengaktifkan sel NK, yang kemudian akan mensekresi IFN- yang akan mengaktifkan makrofag. Makrofag juga akan terstimulasi untuk memproduksi TNF- yang akan mengaktifkan makrofag lainnya (Harijanto 2000). Pada kelompok perlakuan vitamin A memperlihatkan adanya penurunan persentase parasitemia yang lebih cepat adalah pada dosis 70 IU/g BB.

Hal tersebut dapat dilihat pada tabel bahwa pada hari ke-8 persentase parasitemia terdapat pada angka 0,80. Semakin besar dosis vitamin A maka semakin banyak pula sel limfosit T yang akan dihasilkan. Dengan semakin banyaknya sel limfosit T yang berperan serta sebagai sel-sel pembantu dalam pembentukan antibodi yang dihasilkan, maka akan semakin banyak pula sel T helper yang mensintesis dan membebaskan mediator yang menyebabkan degenerasi Plasmodium di eritrosit. Penelitian ini membuktikan bahwa vitamin A merupakan imunostimulan terhadap infeksi malaria. Selama ini, pemberian vitamin A dipahami hanya sebagai terapi adjuvant. Namun, dari berbagai penelitian yang telah dilakukan memberikan tanggapan bahwa vitamin A ini sangat berpengaruh dalam memperkuat sistem imun tubuh. Dengan demikian, pemberian suplementasi vitamin A sangatlah penting dalam meningkatkan kesehatan masyarakat Indonesia dalam penanggulangan kasus malaria, khususnya di daerah endemis malaria.

Simpulan

Simpulan yang dapat ditarik dari hasil penelitian ini adalah pemberian vitamin A berpengaruh terhadap penurunan parasitemia

Plasmodium berghei pada mencit strain Swiss. Dosis vitamin A yang paling baik menurunkan persentase parasitemia Plasmodium berghei mencit strain swiss dalam penelitian ini adalah 70 IU/g BB.

Daftar Pustaka

- Harijanto, P.N. 2000. Malaria: Epidemiologi, Patogenesis, manifestasi Klinis dan Penanganan. Jakarta: EGC.
- Inocent. G, Gustave, L.L., Issa, S. Yolande, M., Bertan, P.M.J., Richard, E.A & Felicité, T.M. 2007. Influence of malaria on the serum levels of vitamin A, zinc and calcium of children in Douala-Cameroon. *African Journal of Biotechnology* 6 (7): 871- 876.
- Mora, J.R., Iwata, M & Andrian, U.H. 2008. Vitamin Effects On The Immune System: Vitamins A and D Take Centre Stage. *Immunology* 8: 685- 69
- Papyrus, E.. 2007. Aspek Imunitas Malaria. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan* 13:31-48.
- Sadikin, M., Jusman, S.W.A., Dhairyani, M.R. & Azizahwati. 1994. Vitamin A dan imunitas: peningkatan titer antibodi pada tikus yang disuntik dengan vitamin A. *Majalah Kedokteran Indonesia* 44 (12):737-742.
- Yuliawati A. 2006. Pengaruh Pemberian Likopen Tomat Terhadap Parasitemia Plasmodium berghei Pada Mencit Strain Swiss. Skripsi. Semarang: Universitas Negeri Semarang