

NASKAH PUBLIKASI

**EFEK AIR KELAPA (*Cocos Nucifera L.*) TERHADAP
JUMLAH LEUKOSIT DARAH TEPI TIKUS PUTIH (*Rattus
Novergicus*) GALUR WISTAR LEUKOPENIA YANG
DIINDUKSI *CYCLOPHOSPHAMIDE***



EKO KUNARYAGI

I11112036

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2016

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**EFEK AIR KELAPA (*Cocos Nucifera L.*) TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT
DARAH TEPI TIKUS PUTIH (*Rattus Novergicus*) GALUR WISTAR
LEUKOPENIA YANG DIINDUKSI *CYCLOPHOSPHAMIDE***

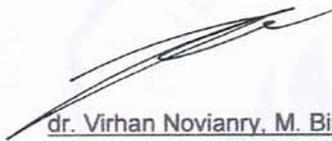
Tanggung Jawab Yuridis Material Pada

EKO KUNARYAGI

NIM I11112036

Disetujui Oleh

Pembimbing Utama



dr. Virhan Novianry, M. Biomed
NIP. 19821129 200801 1 002

Pembimbing Kedua



dr. Effiana
NIP. 19660906 201404 2 001

Penguji Pertama



dr. Andriani, M. Biomed
NIP. 19820417 200812 2 003

Penguji Kedua



dr. Diana Natalia, M. Biomed
NIP. 19791224 200812 2 002

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura



dr. Arif Wicaksonp, M. Biomed
NIP. 198310302008121002

EFEK AIR KELAPA (*Cocos Nucifera* L.) TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT DARAH TEPI TIKUS PUTIH (*Rattus Novergicus*) GALUR WISTAR LEUKOPENIA YANG DIINDUKSI *CYCLOPHOSPHAMIDE*

Eko Kunaryagi¹, Virhan Novianry², Effiana³

Abstrak

Latar Belakang: Penggunaan obat *cyclophosphamide* menimbulkan efek samping berupa supresi sumsum tulang sehingga menurunkan jumlah leukosit. Air kelapa yang mengandung zat-zat yang diduga mampu menstimulasi proliferasi sel sumsum tulang. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian air kelapa muda terhadap jumlah leukosit darah tepi. **Metodologi:** Desain penelitian ini adalah *true experimental* dengan pendekatan *pretest and posttest control group design*. Penelitian ini menggunakan 30 tikus dan dibagi menjadi 5 kelompok. Kontrol positif (K1) diberikan injeksi intraperitoneal akuades 5ml/kgBB; kelompok kontrol negatif (K2) diberikan injeksi intraperitoneal *cyclophosphamide* 50mg/kgBB; kelompok perlakuan dosis 1,2,3 (D1,D2,D3) diberikan injeksi intraperitoneal *cyclophosphamide* 50mg/kgBB dan air kelapa dengan dosis masing-masing 2ml/100g BB, 4ml/100g BB dan 6ml/100g BB. Semua perlakuan dilakukan selama 14 hari. Pemberian *cyclophosphamide* dilakukan sekali pada hari ke-1. Pemeriksaan darah *pretest* dilakukan pada hari ke-1, *posttest* 1 ke-4, dan *posttest* 2 ke-15 masa perlakuan. Data dianalisa dengan uji *Repeated ANOVA* dan *One way ANOVA* yang dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Test*. **Hasil:** Penilaian jumlah leukosit darah tepi berdasarkan kelompok dosis menunjukkan peningkatan jumlah leukosit yang bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok K2, D1, D2, dan D3. Penilaian jumlah leukosit berdasarkan waktu pemeriksaan saat *posttest* 2 menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok D3 terhadap kelompok K2 dan tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok D1 dan D2 terhadap kelompok K2. Sedangkan hasil pemeriksaan *posttest* 2 pada kelompok K1 menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok K2, D1 dan D2 dan tidak menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok D3. **Kesimpulan:** Pemberian air kelapa mampu meningkatkan jumlah leukosit darah tepi pada tikus yang diinduksi *cyclophosphamide*.

Kata kunci: *Cocos Nucifera* L., leukosit, *cyclophosphamide*

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 2) Departemen Biokimia, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 3) Departemen Mikrobiologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat

THE EFFECT OF COCONUT WATER (*Cocos Nucifera* L.) ON THE NUMBER OF LEUCOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD OF CYCLOPHOSPHAMIDE-INDUCED WISTAR WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

Eko Kunaryagi¹, Virhan Novianry², Effiana³

Abstract

Background: Cyclophosphamide's adverse effect includes suppression of bone marrow, leading to a reduced leucocyte number. Coconut water is thought to have compounds that can stimulate bone marrow proliferation. **Aim:** Investigating the effect of coconut water on leucocyte number in peripheral blood. **Methods:** This study was a true experiment with a pre-test and post-test control group design. Thirty rats, divided into 5 groups, were used. Positive control group (K1) were treated with 5 mL/kg of distilled water intraperitoneally; negative control group (K2) were given 50 mg/kg of intraperitoneal cyclophosphamide; Groups D1, D2 and D3 were given 2 mL/100 g, 4 mL/100 g and 6 mL/100 g of coconut water respectively in addition to 50 mg/kg of intraperitoneal cyclophosphamide. All rats were treated for 14 days. Cyclophosphamide was administered once on the first day of treatment. Pre-test blood evaluation was conducted on the first day of treatment while the first and second post-test blood evaluations were done on the fourth and fifteenth day, respectively. Data were analyzed with Repeated ANOVA and One-Way ANOVA followed by Post-Hoc test. **Results:** Leucocyte numbers increased significantly across Groups K2, D1, D2 and D3 ($p < 0,05$). Leucocyte number of Group K2 was significantly different to that of Group D3 in the second post-test but not to that of Groups D1 and D2. Leucocyte number of Group K1 was significantly different to that of Groups K2, D1 and D2 but not to that of Group D3. **Conclusions:** Coconut water has can increase leucocyte numbers in cyclophosphamide-induced rats' peripheral blood.

Keywords: *Cocos Nucifera* L., leukocyte, cyclophosphamide

- 1) Medical Study Programme, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan.
- 2) Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan.
- 3) Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan.

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyebab kematian utama kedua di dunia dengan jumlah kematian sebesar 13% dari 22% kematian akibat penyakit tidak menular.¹ Terdapat 14,1 juta kasus kanker baru dan 8,2 juta kasus kanker yang berhubungan dengan jumlah kematian di tahun 2012. Studi memperkirakan pada tahun 2020 jumlah penderita kanker menjadi 32,6 juta (usia diatas 15 tahun).^{2,3} Penyakit kanker di Indonesia menduduki urutan ke 6 dari pola penyakit nasional.⁴

Salah satu modalitas terapi pada pasien kanker adalah kemoterapi. Kemoterapi merupakan jenis terapi kanker yang paling banyak digunakan karena memiliki keunggulan yaitu dapat mencapai sel kanker yang tersebar di seluruh tubuh bagian manapun, sedangkan terapi radiasi dan bedah hanya bersifat lokal.^{5,6} Tujuan dari kemoterapi adalah untuk membunuh sel-sel kanker, mengontrol sel kanker untuk tidak terus tumbuh dan menyebar, dan untuk meringankan gejala.⁷

Kemoterapi diharapkan mampu bekerja dengan menekan pertumbuhan atau proliferasi sel kanker walaupun terdapat fakta bahwa obat antikanker tidak dapat membedakan antara sel normal tubuh dan sel kanker sehingga obat ini juga menyerang sel normal yang aktivitas proliferasinya cepat seperti sumsum tulang sehingga kemoterapi dapat menyebabkan depresi pada sumsum tulang.⁷⁻⁹ Sumsum tulang adalah jaringan ikat yang terletak di antara trabekula tulang spon. Depresi sumsum tulang akan menyebabkan proses hematopoietik terganggu karena proses hematopoietik berlangsung di dalam sumsum tulang. Proses hematopoietik adalah salah satu proses dengan pembelahan sel paling aktif dalam tubuh. Leukopenia adalah salah satu akibat dari proses hematopoietik yang terganggu.¹⁰ Obat-obatan yang digunakan dalam kemoterapi penyakit kanker dapat mengganggu proses hematopoietik. Kemoterapi yang dilakukan secara regular dapat menyebabkan leukopenia pada 84% pasien kanker.¹¹

Leukopenia adalah suatu keadaan dimana jumlah total sel darah putih (leukosit) $<4 \times 10^9/L$ ($4000/mm^3$) total pada dua atau lebih pemeriksaan. Leukosit mempunyai peranan penting dalam membentuk sistem imun. Sistem imun secara spesifik mempertahankan tubuh dari patogen penginvasi (misalnya bakteri dan virus) dan berfungsi sebagai petugas kebersihan yang membersihkan sel-sel tua dan sisa jaringan yang rusak.¹²

Jumlah leukosit berkurang akan menyebabkan pasien kanker rentan terkena infeksi pada saluran pencernaan dan saluran pernapasan serta menyebabkan sepsis terutama jika jumlah neutrofil kurang dari 1000 sel/ mm^3 .¹³ Salah satu tanaman yang belum banyak diteliti namun memiliki potensi untuk meningkatkan sistem imun tubuh adalah kelapa. Kelapa cukup mudah ditemukan pada daerah beriklim tropis seperti di Indonesia dan persebarannya cukup merata di Indonesia. Penelitian yang dilakukan oleh Anthony Loki dan T. Rajamohan telah membuktikan bahwa air kelapa muda memiliki efek antioksidan dan hepatoprotektor.¹⁴ Air kelapa juga memiliki efek regenerasi terhadap sel β pancreas.¹⁵ Air kelapa muda mengandung polisakarida, vitamin (Vitamin B2, B6, B12, dan C), kinetin, asam folat dan asam amino (*arginine, aspartic acid, glutamic acid, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, proline, serine, tyrosine, tryptophan*) dalam jumlah yang tinggi. Bahan-bahan yang terdapat pada air kelapa muda mampu menstimulasi dan menyediakan bahan yang diperlukan pada pembelahan sel.¹⁶⁻¹⁸

Air kelapa sangat mudah ditemukan di Indonesia dan juga sangat disukai masyarakat Indonesia untuk dikonsumsi sehingga sangat berpotensi untuk meningkatkan sistem imun masyarakat Indonesia. Penelitian ini ingin membuktikan apakah air kelapa muda memiliki aktivitas untuk meningkatkan jumlah leukosit.

METODOLOGI

Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah :

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca ohaus, peralatan pemeliharaan hewan coba (kandang, tempat makan, dan tempat minum), botol minum hewan coba, spuit 1 ml, kateter intravena, sarung tangan kain, tabung EDTA 0,5 ml, dan alat hitung hematologis otomatis *Sysmex KX-21 Hematology Analyzer*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah :

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan hewan standar, *cyclophosphamide*, air kelapa muda, kloroform, alkohol 70%, dan NaCl 0,9%.

Hewan Uji

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar sebanyak 30 ekor dengan usia 2 bulan diawal penelitian dengan berat 150-250 gram. Pemberian makan adalah pakan standar dan minum *ad libitum*.

Prosedur Penelitian

Tikus jantan galur wistar sebanyak 30 ekor yang memenuhi kriteria inklusi, diaklimatisasi di dalam labratorium. Hewan percobaan diberi pakan selama satu minggu secara *ad libitum*. Kemudian tikus jantan galur Wistar tersebut dibagi ke dalam 5 kelompok secara acak sehingga setiap kelompok terisi atas 6 ekor tikus.

1. Kelompok Kontrol Positif (K1). Hewan uji hanya diinduksi dengan NaCl 0,9% 5 ml/kgBB secara intaperitoneal.
2. Kontrol Kontrol Negatif (K2). Hewan uji diinduksi dengan *cyclophosphamide* 50 mg/kgBB dosis tunggal secara intaperitoneal, tanpa diberi air kelapa muda.

3. Kelompok Uji 1 (D1). Hewan uji diinduksi dengan *cyclophosphamide* 50 mg/kgBB dosis tunggal secara intraperitoneal, kemudian diberi air kelapa muda dengan dosis 2 ml/100g BB peroral selama 10 hari.
4. Kelompok Uji 2 (D2). Hewan uji diinduksi dengan *cyclophosphamide* 50 mg/kgBB dosis tunggal secara intraperitoneal, kemudian diberi air kelapa muda dengan dosis 4 ml/100g BB peroral selama 10 hari.
5. Kelompok Uji 3 (D3). Hewan uji diinduksi dengan *cyclophosphamide* 50 mg/kgBB dosis tunggal secara intraperitoneal, kemudian diberi air kelapa muda dengan dosis 6 ml/100g BB peroral selama 10 hari.

Perlakuan pertama dilakukan pada hari pertama setelah masa aklimatisasi, semua tikus diambil darah *pretest* sebanyak 0,5 ml melalui vena retroorbita untuk diukur jumlah leukositnya. Setelah diambil darahnya, kemudian semua kelompok diberikan *cyclophosphamide* 50 mg/kgBB dosis tunggal secara intraperitoneal kecuali kelompok 1 diberikan NaCl 0,9% dengan dosis 5ml/kgBB. *Cyclophosphamide* sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 ml NaCl 0,9% sampai homogen. Perlakuan kedua dilakukan pada hari ke-4 yaitu pengambilan darah *posttest* 1 dan pemberian air kelapa muda. Pemberian air kelapa muda diberikan pada kelompok D1, D2 dan D3 dengan dosis masing-masing 2 ml/100gBB, 4 ml/100gBB dan 6 ml/100gBB. Pemberian kelapa dilakukan selama 10 hari dan diberikan dalam dosis terbagi sebanyak 3 kali sehari mengingat kapasitas lambung tikus. Perlakuan terakhir adalah pengambilan darah *posttest* 2 pada hari ke 15. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *SPSS 20 for Windows*. Penilaian data dilakukan berdasarkan waktu pemeriksaan menggunakan uji parametrik *repeated* ANOVA sedangkan penilaian data berdasarkan kelompok menggunakan uji parametrik *one way* ANOVA.

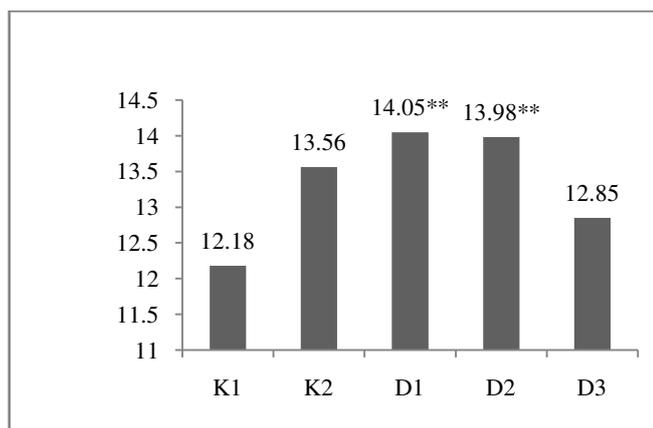
HASIL

Pengambilan dan Pengolahan Sampel Tanaman

Sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelapa yang diambil dari perkebunan kelapa di Kelurahan Siantan Hulu Kecamatan Pontianak Utara Kota Pontianak. Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah air dari kelapa muda dengan ciri-ciri buah dengan kulit berwarna hijau dan berumur 5-6 bulan. Buah kelapa muda yang telah dikumpulkan dikupas menggunakan pisau yang cukup besar dan ketika cangkang buah sudah terlihat, area sekitar cangkang dibersihkan dengan alkohol begitu juga dengan pisau yang digunakan. Setelah area sekitar cangkang dan pisau telah bersih dilanjutkan dengan membuka cangkang dan setelah terbuka kemudian air kelapa dipindahkan ke dalam wadah yang telah dicuci bersih dan memiliki tutup berulir menggunakan spuit 50 ml.

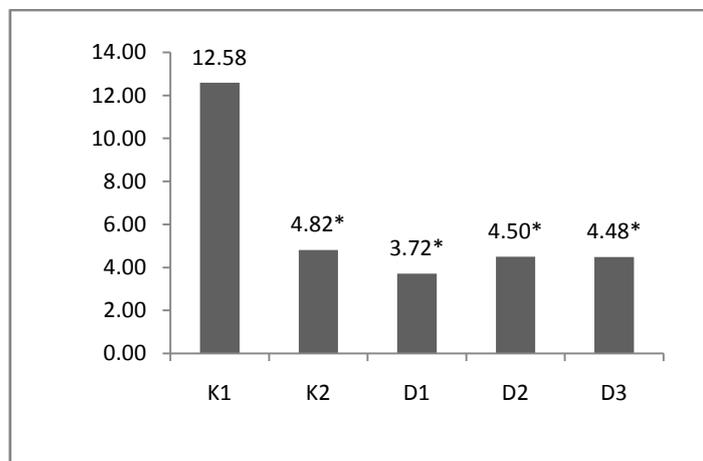
Pengukuran jumlah leukosit

Pada penelitian ini didapatkan rerata jumlah leukosit berdasarkan waktu pemeriksaan seperti tertera pada diagram berikut ini.



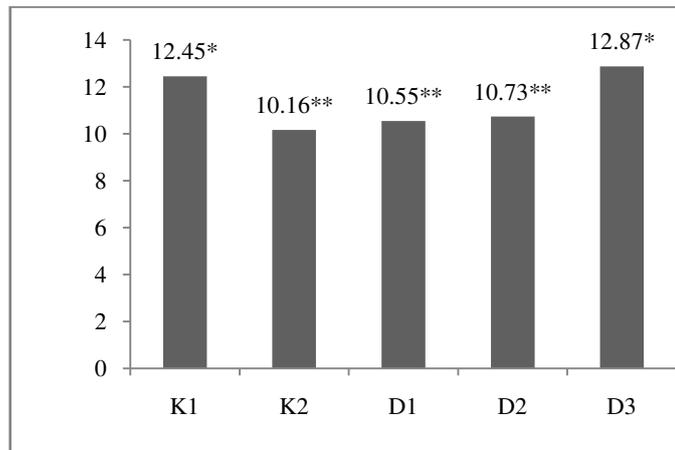
Gambar 1. Rerata Jumlah Leukosit *Pretest*. K1= Kelompok Kontrol Positif (tidak diberikan perlakuan), K2= Kelompok Kontrol Negatif (*cyclophosphamide* 50mg/kgBB), D1= Kelompok Uji 2 (air kelapa 2 ml/100g BB), D2= Kelompok Uji 4 (air kelapa 4 ml/100g BB), D3= Kelompok Uji 3 (air kelapa 6 ml/100g BB). (*One Way ANOVA*, $p = 0,155$)

Hasil dari pemeriksaan *pretest* jumlah leukosit tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik ($p > 0,05$) di antara kelompok hewan coba. Perbedaan jumlah leukosit pada pemeriksaan jumlah leukosit pada saat *pretest* hanya dianggap sebagai variasi karena jumlah leukosit masih dalam kategori normal.



Gambar 2. Rerata Jumlah Leukosit *Posttest* 1. K1= Kelompok Kontrol Positif (tidak diberikan perlakuan), K2= Kelompok Kontrol Negatif (*cyclophosphamide* 50mg/kgBB), D1= Kelompok Uji 2 (air kelapa 2 ml/100g BB), D2= Kelompok Uji 4 (air kelapa 4 ml/100g BB), D3= Kelompok Uji 3 (air kelapa 6 ml/100g BB). (*One Way ANOVA*, $p = 0,000$; *Post Hoc LSD* $p < 0,05$, *= berbeda bermakna dengan kelompok K1)

Hasil dari pemeriksaan jumlah leukosit pada saat *posttest* 1 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) pada kelompok K1 terhadap kelompok K2, D1, D2 dan D3. Perbedaan ini disebabkan oleh pemberian *cyclophosphamide* 50 mg/kgBB secara intraperitoneal pada semua kelompok kecuali kelompok K1 yang mengakibatkan penurunan jumlah leukosit yang signifikan.

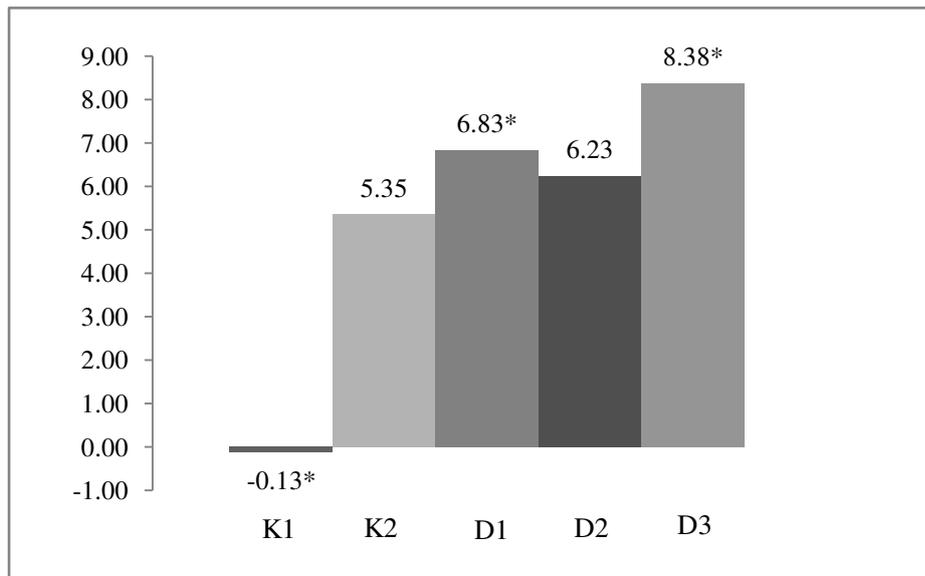


Gambar 3. Rerata Jumlah Leukosit *Posttest 2*. K1= Kelompok Kontrol Positif (tidak diberikan perlakuan), K2= Kelompok Kontrol Negatif (*cyclophosphamide* 50mg/kgBB), D1= Kelompok Uji 2 (air kelapa 2 ml/100g BB), D2= Kelompok Uji 4 (air kelapa 4 ml/100g BB), D3= Kelompok Uji 3 (air kelapa 6 ml/100g BB). (*One Way ANOVA*, $p = 0,000$; *Post Hoc LSD* $p < 0,05$, *= berbeda bermakna dengan kelompok K2, **= berbeda bermakna dengan kelompok K1)

Hasil pemeriksaan *posttest 2* jumlah leukosit menunjukkan ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok K2 terhadap kelompok K1 dan D3 serta pada kelompok K2, D1, D2 terhadap kelompok K1. Perbedaan yang terjadi diakibatkan adanya perlakuan pada kelompok uji yaitu kelompok D1, D2, dan D3. Kelompok D1, D2, dan D3 adalah kelompok yang diberi perlakuan pemberian air kelapa sehingga akan memberikan respon jumlah leukosit yang berbeda dengan kelompok K1 dan K2.

Rerata jumlah kenaikan leukosit setelah pemberian air kelapa selama 10 hari dapat di lihat pada gambar 4. Pada gambar tersebut dapat terlihat bahwa terjadi perbedaan bermakna pada kelompok K2 terhadap kelompok K1, D1 dan D3. Kelompok K2 adalah kelompok yang diberikan induksi *cyclophosphamide* 50 mg/kgBB dosis tunggal dan tidak diberikan air kelapa sehingga kenaikan jumlah leukosit setelah diberikan induksi *cyclophosphamide* merupakan kenaikan jumlah leukosit antara *posttest 1* dan *posttest 2* yang terjadi secara fisiologis akibat respon tubuh dalam melakukan homeostasis. Pada kelompok dosis terjadi peningkatan jumlah

leukosit pada semua kelompok tetapi hanya kelompok D1 dan D3 yang memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok K2. Pada kelompok K1 tidak terjadi peningkatan tetapi terjadi penurunan rerata jumlah leukosit antara *posttest 1* dan *posttest 2* sebesar $0.13 \times 10^3/\text{mm}^3$ darah.



Gambar 4. Rerata Jumlah Kenaikan Leukosit Darah Tepi Setelah Pemberian Air Kelapa. K1= Kelompok Kontrol Positif (tidak diberikan perlakuan), K2= Kelompok Kontrol Negatif (*cyclophosphamide* 50mg/kgBB), D1= Kelompok Uji 2 (air kelapa 2 ml/100g BB), D2= Kelompok Uji 4 (air kelapa 4 ml/100g BB), D3= Kelompok Uji 3 (air kelapa 6 ml/100g BB). (Kruskal-Wallis, $p = 0,001$; Post Hoc Mann-Whitney, $P < 0,05$, *= berbeda bermakna dengan kelompok K2)

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan hasil yaitu *cyclophosphamide* dapat menurunkan jumlah leukosit pada hewan coba dan bahwa air kelapa mampu meningkatkan jumlah leukosit. *Cyclophosphamide* mampu menurunkan jumlah leukosit secara signifikan pada pemeriksaan *posttest 1* jika dibandingkan dengan saat pemeriksaan *pretest* pada semua kelompok yang diberi *cyclophosphamide*. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian air kelapa muda mampu meningkatkan

jumlah leukosit darah tepi dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan menggunakan *cyclophosphamide*.

Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa terjadi kenaikan jumlah leukosit secara fisiologis sebagai respon tubuh dalam melakukan homeostasis pada kelompok K2 (kelompok kontrol negatif, *cyclophosphamide* 50 mg/kgBB) sebesar $8,75 \times 10^3/\text{mm}$ darah. Pada semua kelompok dosis terjadi peningkatan jumlah leukosit setelah diberikan air kelapa muda selama 10 hari namun tidak terjadi perbedaan bermakna antar kelompok dosis ($p > 0,05$). Hanya pada kelompok D1 (air kelapa 2 ml/100g BB) dan D3 (air kelapa 6 ml/100g BB) yang memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok K2 (kelompok kontrol negatif, *cyclophosphamide* 50mg/kgBB) ($p < 0,05$). Namun hanya pada kelompok D3 (air kelapa 6 ml/100g BB) yang terjadi peningkatan jumlah leukosit paling tinggi dan mampu mengembalikan jumlah leukosit pada kondisi awal ketika hewan coba dilakukan pemeriksaan jumlah leukosit pertama kali tanpa diberikan perlakuan apapun.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa air kelapa muda memiliki efek proliferasi. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nair dan Rajamohan yang meneliti tentang peran dari air kelapa terhadap fungsi reproduksi pada tikus dan hasil penelitiannya berupa adanya peningkatan jumlah sel epididimal spermatogenik pada tikus.¹⁹ Penelitian yang dilakukan Nwangwa dan Aloamaka yang menyatakan air kelapa muda memiliki efek regeneratif terhadap sel-sel β pankreas yang diinduksi aloksan.¹⁵

Penurunan jumlah leukosit pada penelitian ini merupakan salah satu gejala akut pada pemberian *cyclophosphamide*. Hal ini disebabkan oleh adanya efek supresi dari *cyclophosphamide* pada sumsum tulang. Efek dari *cyclophosphamide* ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Okwuosa et al., Jiang et al., Xu et al. dan Vigila et al. yang menyatakan bahwa *cyclophosphamide* mampu menurunkan jumlah leukosit pada hewan coba.²⁰⁻²³ *Cyclophosphamide* merupakan alkilator golongan

mustard nitrogen yang menyebabkan alkilasi pada DNA sehingga menghambat sintesis dan fungsi DNA pada rantai DNA. Sumsum tulang yang tersupresi akan terhambat untuk membentuk sel-sel darah termasuk leukosit.²⁴

Terjadinya peningkatan jumlah leukosit disebabkan oleh beberapa kandungan dalam air kelapa yang menunjang proses hematopoiesis. Air kelapa merupakan minuman alam yang diproduksi secara biologis dan dikemas dengan steril di dalam buah kelapa. Air kelapa sangat kaya akan kandungan gizi dan elektrolit. Hal ini menyebabkan air kelapa mampu membantu kelangsungan hidup sel dengan menyediakan bahan-bahan yang dibutuhkan oleh sel-sel tubuh.²⁵ Air kelapa muda mengandung berbagai macam fitohormon dan salah satunya adalah sitokinin. Sitokinin adalah fitohormon yang memiliki peran dalam berbagai aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman misalnya pembelahan sel, pembentukan dan aktivitas meristem tunas, induksi ekspresi gen fotosintesis, penuaan daun, mobilisasi nutrisi, perkecambahan biji, pertumbuhan akar dan respon stress.²⁶⁻²⁸ Air kelapa muda mengandung kinetin dengan konsentrasi $0,31 \times 10^{-3} \mu\text{M}$.^{29,30} Kinetin merupakan fitohormon yang termasuk dalam kelompok sitokinin dan merupakan derivat adenin dengan tambahan sebuah rantai samping N⁶.³¹ Kinetin terbukti memiliki efek *anti-ageing* pada kulit manusia dan lalat buah.³²⁻³⁵ Kinetin menstimulasi proliferasi dan diferensiasi keratinosit di epidermis, meningkatkan jumlah *laminin 5* di *dermal-epidermis junction*, dan mempengaruhi pembentukan *fibrilin-1* dan deposisi elastin.³⁶

Kinetin meningkatkan pembelahan sel dan mengarahkan lebih sedikit sel untuk tertahan dalam fase G0/G1 dan meningkatkan aktivitas sel.³⁷ Kinetin mampu menghasilkan perubahan ekspresi pada moesin, actin, dan *rho GDP dissociation inhibitor* (GDI) dan meningkatkan aktivitas *rho GTPase* yang mempengaruhi *actin*. *Actin* adalah protein yang membentuk sitoskeleton dan terhubung dengan *rho pathway*. *Moesin* berperan dalam transduksi sinyal dan remodeling sitoskeleton. Melalui jalur

ini kinetin mengambil peran dalam pengaturan proliferasi sel. Siklus sel berhenti pada fase G1 berhubungan dengan penuaan dan berujung pada apoptosis. Hal ini terjadi ketika G1 spesifik *cyclin* D1 atau *cyclin* E1, pRB, p16, p21, dan p27 mengalami perubahan. Ketika fungsi seluler menurun, aktivasi p53 mengambil alih. Hal ini menekan kemajuan siklus sel, menstimulasi kenaikan dari p21 dan p27 dan menginduksi pemberhentian pada fase G1. Kinetin menurunkan ekspresi dari p16, p27, dan p53 dan meningkatkan jumlah *cyclin* D1. Jalur *rho pathway* mempengaruhi sitoskeleton, mendukung transisi siklus sel G1/S dan juga meningkatkan proliferasi. Rho GTPase meningkatkan ekspresi dari p27 dan meregulasi *cyclin* D1.³³

Pada eksperimen yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kinetin menunda onset penuaan dari fibroblas dan membantu sitokinesis tetapi tidak mempromosikan induksi dari fase S. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan aktivitas kinetin tergantung pada tipe sel.³³ Kinetin menunjukkan kemampuannya sebagai antioksidan kuat dalam kondisi *in vivo* dan *in vitro*. Studi yang dilakukan Olsen *et al.* mendemonstrasikan bahwa kinetin melindungi DNA dari kerusakan oksidatif yang dimediasi oleh reaksi fenton. Kinetin menghambat pembentukan *8-oxo-2'deoxyguanosine* yang merupakan *marker* kerusakan oksidatif DNA.³⁸

Air kelapa muda juga mengandung beberapa kandungan gizi yang membantu proses hematopoesis. Kandungan gizi antara lain adalah adanya asam folat, asam amino (*arginine, aspartic acid, glutamic acid, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, proline, serine, tyrosine, tryptophan*) zat besi, vitamin B12 dan vitamin C. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh susilawati pada tahun 2009 yang menyatakan bahwa kandungan zat besi, vitamin C dan asam folat serta asam amino memiliki kemampuan untuk membantu proses proliferasi leukosit.³⁹ Asam folat dan vitamin B12 merupakan unsur pokok esensial yang harus ada dalam asupan makanan manusia karena peran pentingnya dalam sintesis DNA pada sel yang berproliferasi.

Defisiensi salah satu atau keduanya dari asam folat dan vitamin B12 akan mempengaruhi jaringan dengan *turnover* sel yang cepat khususnya sumsum tulang.⁶

Reduksi asam folat di katalisis oleh *dihydrofolate reductase* dalam dua tahap menghasilkan *dihydrofolate* (FH₂) dan *tetrahydrofolate* (FH₄). FH₄ merupakan kofaktor yang mendonorkan *methyl groups* (*1-carbon transfers*) di beberapa jalur metabolik. FH₄ merupakan bahan esensial untuk sintesis DNA karena perannya sebagai kofaktor dalam sintesis purin dan pirimidin serta dibutuhkan dalam reaksi metabolisme asam amino. FH₄ sangat penting dalam konversi *deoxyuridylylate monophosphate* (DUMP) menjadi *deoxythimidylate monophosphate* (DTMP). Reaksi ini dikatalisis oleh *thymidylate synthetase* dengan FH₄ berperan sebagai pendonor metil. Vitamin B12 dibutuhkan dalam konversi dari *methyl-FH₄* menjadi FH₄.^{6,40}

Penelitian yang dilakukan Asamanik pada tahun 2005 menyatakan bahwa konsentrasi vitamin C dalam sel granulosit 10-40 kali lebih tinggi daripada konsentrasi dalam plasma.⁴¹ Hal ini menunjukkan bahwa adanya kebutuhan vitamin C pada sel granulosit. Peranan vitamin C dengan terjadinya peningkatan jumlah leukosit adalah dengan melakukan perlindungan sel-sel leukosit terhadap radikal bebas. Hal ini dilakukan agar jumlah sel leukosit tidak mengalami penurunan akibat penuaan dan berakhir pada apoptosis.³⁸ Vitamin C juga dibutuhkan untuk membantu mempercepat pengabsorpsian zat besi yang terdapat dalam air kelapa muda dengan cara mereduksi ferri (Fe³⁺) menjadi fero (Fe²⁺).³⁸ Penelitian yang dilakukan Ekiz *et al.* pada tahun 2005 melaporkan bahwa zat besi sangat membantu proliferasi limfosit. Bila terjadi defisiensi zat besi maka akan terjadi penurunan jumlah total limfosit.⁴²

Penggunaan air kelapa sebagai terapi adjuvan pada pasien kanker yang menjalani kemoterapi dan mengalami leukopenia belum dapat diterapkan secara langsung. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan efek kinetin yang dapat merangsang proliferasi sel. Belum ada penelitian

apakah kinetin hanya merangsang sel normal saja dan tidak memiliki efek terhadap sel kanker. Di dalam air kelapa juga terdapat kinetin riboside yang merupakan senyawa kinetin yang memiliki rantai samping riboside. Kinetin riboside memiliki efek untuk melawan sel kanker dengan cara mendepleksi ATP dalam sel kanker dan akhirnya merangsang apoptosis. Adanya efek berlawanan antara kinetin dan kinetin riboside yang terdapat dalam air kelapa muda menyebabkan penggunaan air kelapa pada pasien kanker yang menjalani kemoterapi dan mengalami leukopenia masih harus diteliti lebih lanjut.

KESIMPULAN

1. Pemberian air kelapa muda mempengaruhi jumlah leukosit darah tepi tikus putih (*Rattus novergigus*) galur wistar yang diinduksi *cyclophosphamide*.
2. *Cyclophosphamide* memiliki efek menurunkan jumlah leukosit darah tepi.
3. Terjadi peningkatan jumlah leukosit darah tepi pada dosis 2 ml/100g BB, 4 ml/100g BB dan 6 ml/100g BB tetapi hanya pada dosis 6 ml/100g BB yang mampu mengembalikan jumlah leukosit seperti sebelum dilakukan perlakuan.

SARAN

1. Dilakukan penelitian lanjutan dengan mengisolasi senyawa kinetin dari air kelapa muda untuk mengetahui bahwa kinetin bertanggung jawab terhadap terjadinya peningkatan jumlah leukosit.
2. Dilakukan penelitian lanjutan berupa uji toksisitas akut untuk mengetahui LD₅₀ pada air kelapa muda.
3. Dilakukan penelitian dengan memberikan air kelapa bersamaan dengan pemberian *cyclophosphamide* dosis terapi harian untuk melihat kemampuan air kelapa dalam meningkatkan jumlah leukosit tanpa dipengaruhi masa *recovery* pada hewan coba.

4. Dilakukan penelitian dengan memberikan kinetin pada sel kanker untuk melihat efek kinetin terhadap sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

1. Shibuya K, Mathers CD, Boschi-Pinto C, Lopez AD, Murray CJL. Global and regional estimates of cancer mortality and incidence by 202 site: II. Results for the global burden of disease 2000. *BMC Cancer* 2002;37-62 and 2003;20-5.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: IARC cancer base no. 11. 2012. [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from <http://globocan.iarc.fr>.
3. Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *Int J Cancer*. 2013; 132:1133–45. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.27711> PMID:22752881
4. Dinas Kesehatan Republik Indonesia. Riset kesehatan dasar. 2013;119-121.
5. American Cancer Society. What is chemotherapy? How chemotherapy works. *Am Cancer Soc*. 2013;1–29. Available from: www.cancer.org
6. Rang HP, Dale M M, Ritter J M. Rang and Dale's pharmacology. Edisi 6. Churchill Livingstone Elsevier; 2003. p. 310-14, 673-6.
7. Departemen Farmakologi dan Teurapetik FK UI. Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta: Badan Penerbit FK UI; 2007. p. 732-4.
8. Understanding Chemotherapy: A Guide for Patients and Families. 2013. Available from: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003025-pdf.pdf>
9. Canadian Cancer Society. Bone Marrow Suppression. 2015. Available from: <http://www.cancer.ca/en/cancer-information/diagnosis-and->

treatment/managing-side-effects/bone-marrow-suppression/?region=bc

10. Guyton AC, dan Hall JE. Fisiologi kedokteran. Edisi 11. Jakarta: EGC;2006. p. 450-2.
11. Liu W, Zhang C, Li K. Prognostic value of chemotherapy-induced leukopenia in small-cell lung cancer. 2013;92–8.
12. Sherwood, L. Fisiologi Manusia; Dari Sel ke Sistem. Edisi 6. Jakarta:EGC;2009. p.428-32.
13. Marinella MA. Extreme leukemoid reaction associated with retroperitoneal hemorrhage. Arch Intern Med. 1998;158:300-1. Available from: <http://www.scirp.org/journal/PaperDownload.aspx?paperID=47351>
14. Loki AL, Rajamohan T. Hepatoprotective and antioxidant effect of tender coconut water on carbon tetrachloride induced liver injury in rats. Indian J Biochem Biophys. 2003;40:354–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22900330>
15. Nwangwa EK, Aloamaka CP. Regenerative effects of coconut water and coconut milk on the pancreatic β -cells and cyto architecture in alloxan induced diabetic wistar albino rats. Am J Trop Med. 2011;1:137–46.
16. Tzianabos AO. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: Structural aspects and biologic functions. Clin Microbid 2000; 13:523-533.
17. Bafna AR and Mishra SH. Immunomodulatory activity of methanol extract of roots of *Cissampelos pareira*Linn. 2005.
18. Yong JWH, Ge L, Ng YF, Tan SN. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. Molecules. 2009;14:5144–64.
19. Nair SVG, Rajamohan T. The Role of Coconut Water on Nicotine-Induced Reproductive Dysfunction in Experimental Male Rat Model. Food Nutr Sci. 2014 ;05:1121–30.

20. C.N. Okwuosa, P.U.O Achukwu, N.C Azubike. A.I.E. Abah. Protective Effect of the Leaf Extract of *Combretum racemosum* P. Beauv (Combretaceae) on Cyclophosphamide Induced Pancytopenia and Liver Injury In male Rats. *J Pharmacol.* 2012;6:30–4.
21. Jiang RZ, Wang Y, Luo HM, Cheng YQ, Chen YH, Gao Y, et al. Effect of the molecular mass of tremella polysaccharides on accelerated recovery from cyclophosphamide-induced leucopenia in rats. *Molecules.* 2012;17:3609–17.
22. Xu M, He RR, Ahi YJ, Abe KKH. Effects of carnosine on cyclophosphamide-induced hematopoietic suppression in mice. *Am J Chin Med* 2014;42:131–42.
23. Vigila G, Baskaran X. 2008 Immunomodulatory Effect of Coconut Protein on Cyclophosphamide Induced Immune Suppressed Swiss Albino Mice. *Ethnobot Leaflet.* 2008;12:1206–12.
24. Haubitz M. Acute and long-term toxicity of cyclophosphamide. *Transplantationsmedizin.* 2007;19:26–31.
25. Gopikrishna V, Baweja PS, Venkateshbabu N, Thomas T, Kandaswamy D. Comparison of Coconut Water, Propolis, HBSS, and Milk on PDL Cell Survival. *J Endod. American Association of Endodontists.* 2008;34:587–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.01.018>
26. Werner, T.; Motyka, V.; Strnad, M.; Schmulling, T. Regulation of plant growth by cytokinin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001;98:10487–92.
27. Amasino, R.M. 1955: Kinetin arrives. The 50th anniversary of a new plant hormone. *Plant Physiol.* 2005;138:1177–84.
28. Tantikanjana T, Yong JWH, Letham DS, Griffith M, Hussain H, Ljung K, Sandberg G, Sundaresan V. Control of axillary bud initiation and shoot architecture in *Arabidopsis* by the SUPERSHOOT gene. *Genes Dev.* 2001;15:1577–88.
29. Ge L, Yong JWH, Tan SN, Yang XH, Ong ES. Analysis of cytokinin nucleotides in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using capillary zone

- electrophoresis-tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. *Electrophoresis*. 2006;27:2171–81.
30. Barciszewski J, Massino F, Clark BFC. Kinetin — A multiactive molecule. *Int J Biol Macromol*. 2007;40:182–92.
 31. Ramawat K. *Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine*. 2009. P. 71.
 32. Rattan SIS, Clark BFC. Kinetin delays the onset of ageing characteristics in human fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1994, 201, 665–72.
 33. Yang, D. Biological activities of kinetin on animals. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2013 ;12:671-75.
 34. Sharma SP, Kaur P, Rattan SIS. Plant growthhormone kinetin delays aging, prolongs the life span and slows down development of the fruitfly *Zapronius paravittiger*. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1995, 216, 1067–71.
 35. Sharma SP, Kaur J, Rattan SIS. Increased longevity of kinetin-fed *Zapronius fruitfliesis* accompanied by their reduced fecundity and enhanced catalase activity. *Biochem. Mol. Biol. Int*. 1997;41:869–75.
 36. Vicanova J, Bouez C, Lacroix S, Lindmark L, Damour O. Epidermal and dermal characteristics in skin equivalent after systemic and topical application of skin care ingredients. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1067:337–42.
 37. Lee JH, Chung KY, Bang D, Lee KH. Searching for aging-related proteins in human dermal microvascular endothelial cells treated with anti-aging agents. *Proteomics*. 2006;6:1351–61.
 38. Olsen A, Siboska GE, Clark BFC, Rattan SIS. N⁶-Furfuryladenine, kinetin, protects against Fenton reaction-mediated oxidative damage to DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1999; 265:499–502.
 39. Susilawati. Pengaruh ekstrak kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap kuantitas leukosit dan presentase limfosit tikus putih (*Rattus norvegicus*). 2009.

40. Stanger O. Physiology of Folic Acid in Health and Disease. *Curr Drug Metab.* 2002;3:211–23.
41. Asmanik. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap kuantitas leukosit mencit (*Mus musculus*). 2005.
42. Ekiz, C; Agaoglu, L; Karakas, Z; Gurel, N; Yalcin, I. The effect of iron deficient anemia on the function of the immune system. 2005.