



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *HEDYOTIS CORYMBOSA* DOSIS BERTINGKAT  
TERHADAP PRODUKSI NITRIC OXIDE MAKROFAG MENCIT *BALB/C* YANG DIINFEKSI  
DENGAN  
SALMONELLA TYPHIMURIUM**

**ARTIKEL PENELITIAN**

Diajukan guna memenuhi tugas dan melengkapi syarat  
dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana  
Fakultas Kedokteran

**Disusun Oleh :**

**DAVID SAHAT  
NIM:G2A002050**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

UNIVERSITAS DIPONEGORO

SEMARANG

2006

HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui oleh dosen pembimbing, usulan proposal karya tulis ilmiah dari:

Nama : DAVID SAHAT

NIM : G2A002050

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Universitas Diponegoro

Tingkat : Program Pendidikan Sarjana

Bagian : HISTOLOGI

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *HEDYOTIS CORYMBOSA* DOSIS BERTINGKAT TERHADAP PRODUKSI NITRIC OXIDE MAKROFAG MENCIT *BALB/C* YANG DIINFEKSI DENGAN *SALMONELLA TYPHIMURIUM***

Pembimbing : dr.Ratna Damma Purnawati, M.Kes

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana.

Semarang, 27 Februari 2006.

Pembimbing,

dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes  
NIP. 131 916 037

**The effect of administered extract *Hedyotis corymbosa* with gradual doses to macrophage derived nitric oxide production in Balb/c mice which infected *Sallmonela Typhimurium*.**

David Sahat\* , Ratna Damma Purnawati\*\*

## ABSTRACT

**Backgrounds:** Typhoid fever can be found every year in Indonesia . *Hedyotis corymbosa* was proved to raise immune responses during intracell bacteria infection. Nitric oxide (NO) can be produced by T helper cell type 1. NO controlling the immune responses as effectors to kill bacteria by inducing apoptosis T cell type 1. This was possible if the macrophage be activated.

**Objective:** To prove the administering of *Hedyotis corymbosa* effecting the NO production in peritoneal macrophage of Balb/c mice which infected *Sallmonella typhimurium*

**Method:** This research was conducted experimentally ( post test only control group design ) to 30 Balb/c mices that become the sample. The sample was divided into 6 groups: K1 (administered standard diet), K2 (infected by *Sallmonella typhimurium*), K3 ( administered *Hedyotis corymbosa* 80 mg), the treatment group which infected *Sallmonella typhimurium* and administered *Hedyotis corymbosa* with every dose , P1 24 mg, P2 80 mg, P3 240 mg. After 14 days those mice were killed, then macrophage isolation from peritoneum cavity was conducted. Then, the NO production was calculated by the calibration curve for NO determination using Griess reaction.

**Results:** There is a significant differences between K2 and P2 ( $p=0.008$ ), P1 and P2 ( $p=0.047$ ), P2 and P3 (0.008), but there is no a significant differences between P1 and P3 ( $p=0.278$ )

**Conclusion:** There are significant increases to NO production in P1 and P2 but there is a decrease NO production in P3 .

**Keywords:** *Hedyotis corymbosa*, NO production, *Sallmonella typhimurium*

\* Undergraduate Student, Medical Faculty of Diponegoro University

\*\* Department of Histology, Medical Faculty of Diponegoro University

## Pengaruh pemberian ekstrak *Hedyotis corymbosa* dosis bertingkat terhadap produksi nitric oxide makrofag mencit Balb/c yang diinfeksi dengan *Salmonella Typhimurium*

David Sahat\* , Ratna Damma Purnawati\*\*

## ABSTRAK

**Latar Belakang :** Demam tifoid dapat ditemukan sepanjang tahun di Indonesia. Berdasarkan penelitian sebelumnya Rumput mutiara dapat meningkatkan respon imun selama infeksi bakteri intrasel. Nitric oxide (NO) dapat dihasilkan oleh sel T helper tipe 1. NO berefek mengendalikan respon imun sebagai sel efektor untuk membunuh bakteri dengan menginduksi apoptosis sel T helper tipe 1. Hal ini dimungkinkan jika makrofag teraktivasi.

**Tujuan :** Membuktikan pemberian *Hedyotis corymbosa* dapat mempengaruhi produksi NO oleh makrofag mencit Balb/c yang diinfeksi *Sallmonella typhimurium*.

**Metode :** Penelitian dilakukan secara eksperimental (post test only control group design) dengan sampel penelitian 30 ekor mencit Balb/c yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu K1 yang hanya mendapat diet standar, K2 diinfeksi *Salmonella typhimurium*, K3 diberi ekstrak *Hedyotis corymbosa* 80 mg , kelompok perlakuan yang diinfeksi *Sallmonella typhimurium* serta diberi ekstrak *Hedyotis corymbosa* dengan dosis, P1 24 mg, P2 80 mg, dan P3 240 mg selama 14 hari. Setelah perlakuan berakhir , semua mencit dibunuh, kemudian dilakukan isolasi makrofag peritoneum untuk dilakukan pengukuran produksi NO.

**HASIL :** Pada penelitian ini ditemukan perbedaan yang bermakna antara kelompok K2 dengan P2 (  $p=0.008$  ), P1 dengan P2 (  $p=0.047$ ), P2 dengan P3 (  $p=0.008$  ) namun antara P1 dengan P3 tidak menunjukkan perbedaan bermakna( $p=0.278$ ).

**KESIMPULAN :** Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok Kontrol dan kelompok perlakuan. Pada P1 dan P2 terjadi peningkatan produksi NO namun pada P3 terjadi penurunan produksi NO

Kata kunci : *Hedyotis corymbosa*, produksi NO makrofag, *Salmonella typhimurium*

\* Mahasiswa S1 Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

\*\* Staf Pengajar Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## PENDAHULUAN

Di dalam tubuh terdapat mekanisme tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup yang dikenal dengan imunitas. Sel dan molekul yang bertanggung jawab atas imunitas disebut sistem imun dan respons komponennya secara bersama dan terkoordinasi disebut respons imun.<sup>1</sup> Tubuh memiliki 2 macam respon imun yang terjadi bila terpapar pada zat yang dianggap asing yaitu respon imun non – spesifik dan respon imun spesifik.<sup>2</sup>

Respon imun yang paling penting terhadap bakteri intrasel seperti *Salmonella typhi* adalah respon imun seluler. Imunitas seluler ini terdiri dari makrofag yang teraktivasi oleh  $IFN_{\gamma}$  yang diproduksi sel limfosit T dan pelisisan sel yang terinfeksi jika bakteri dapat bertahan pada sel. Makrofag bila dirangsang oleh  $IFN_{\gamma}$  ,  $TNF_{\alpha}$  , interleukin dan lipopolisakarida (LPS ), transkripsi gen yang menginduksi iNOS ( inducible NO sintase) meningkat, akibatnya dihasilkan NO dalam jumlah besar.<sup>3,4</sup> Pada sistem imun NO berfungsi sebagai immunoregulator ataupun molekul efektor sitotoksik seperti penghancuran sel tumor, mikroba, parasit dan juga zat karsinogenik dan immunosupresif.<sup>5</sup> NO sebagai senyawa radikal yang sangat reaktif dapat diubah menjadi  $NO^{2-}$  ( ion nitrosonium ) ;  $NO^{-}$  ( anion nitroksil ) atau menjadi  $ONOO^{-}$  ( anion peroksinitrit ) yang dapat merusak lipid, protein dan DNA bakteri.<sup>4</sup>

Tumbuhan *Hedyotis corymbosa* atau yang dikenal sebagai rumput mutiara telah diketahui memiliki

khasiat untuk mengobati beberapa penyakit seperti tonsillitis, cholecystitis, menghambat pertumbuhan sel tumor seperti Ca lambung, fibrosarkoma serta Ca cervix.<sup>5</sup> Dalam penelitian rumput mutiara diketahui memiliki beberapa kandungan senyawa kimia seperti asam oleanolat dan asam ursolat yang memiliki efek antiinflamasi dan antikanker serta memacu imunitas tubuh.<sup>5,6</sup>

Pengaruh *Hedyotis corymbosa* pada sistem imun penderita demam tifoid secara keseluruhan belum jelas, maka peneliti tertarik untuk mengetahui pengaruh *Hedyotis corymbosa* dosis bertingkat terhadap produksi NO makrofag sebagai bagian dari sistem imun. Berdasarkan teori tersebut maka timbul rumusan masalah apakah pemberian *Hedyotis corymbosa* dapat berpengaruh terhadap produksi NO makrofag mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*?

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian *Hedyotis corymbosa* terhadap produksi NO makrofag sehingga bermanfaat dalam pengembangan terapi alternative.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini menggunakan *post test only control group design* yang dilakukan di laboratorium Histologi dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Sampel penelitian 30 ekor mencit *Balb/c* jantan umur 6-8 minggu, berat badan 20-25 gram dan tidak tampak cacat secara anatomis yang diperoleh dari laboratorium PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Besar sampel penelitian ditentukan berdasarkan criteria WHO, yaitu minimal 5 sampel tiap satu kelompok perlakuan.<sup>7</sup> Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit *Balb/c*. Sebelum mendapat perlakuan, 30 ekor mencit strain *Balb/c* diadaptasi dengan dikandangkan secara individual dan diberi ransum pakan standar dan minum selama 7 hari secara *ad libitum*. 30 ekor mencit tersebut lalu dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit yang ditentukan secara acak.

Lima kelompok perlakuan tersebut adalah:

- Kontrol 1 (K1) :diberi pakan standar, disonde aqua
- Kontrol 2 (K2) :diinfeksi *Salmonella typhimurium* pada hari ke-10 perlakuan
- Kontrol 3 (K3) : diberi *Hedyotis corymbosa* 80 mg/sonde/hari selama 14 hari perlakuan.

- Perlakuan 1 (P1) : diberi *Hedyotis corymbosa* 24 mg/sonde/hari selama 14 hari perlakuan, dan diinfeksi *Salmonella typhimurium* pada hari ke-10 perlakuan.
- Perlakuan 2 (P2) : diberi *Hedyotis corymbosa* 80 mg/sonde/hari selama 14 hari perlakuan, dan diinfeksi *Salmonella typhimurium* pada hari ke-10 perlakuan.
- Perlakuan 2(P3) : diberi *Hedyotis corymbosa* 240 mg/sonde/hari selama 14 hari perlakuan, dan diinfeksi *Salmonella typhimurium* pada hari ke-10 perlakuan.

Mencit diperlakukan seperti di atas, *Hedyotis corymbosa* diberikan dengan sonde lambung. Semua mencit diterminasi dengan cara dislokasi tulang leher setelah perlakuan berakhir. Makrofag diisolasi dari rongga peritonium mencit dengan metode Ding dan Lewis (terlampir) .<sup>8</sup> Setelah itu baru kemudian dilakukan pemeriksaan produksi NO dengan menggunakan metode modifikasi Griess dari Green et al (1982) dan Ding et al .

9

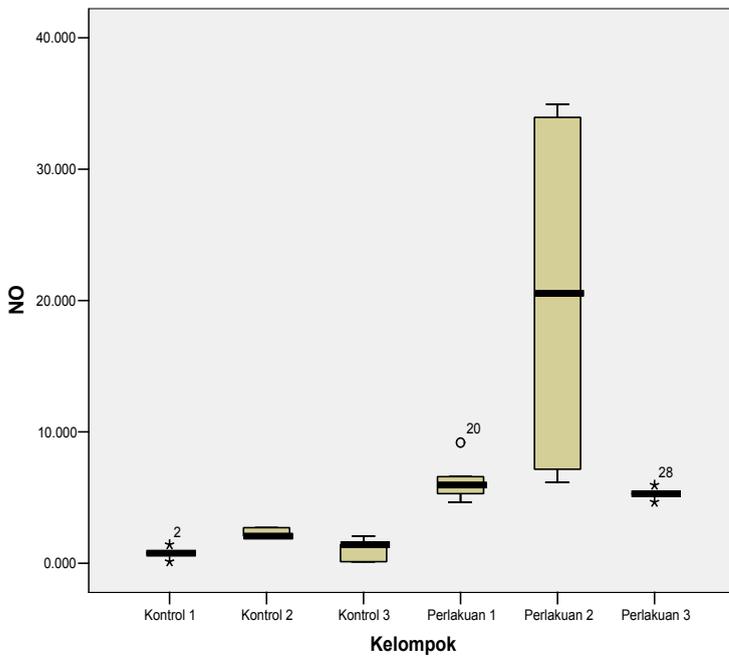
## HASIL

Hasil reaksi dibaca pada ELISA reader, dari pengukuran tersebut dapat dilihat kadar Nitrit Oksida pada tabel dan grafik berikut.

Tabel 1. Kadar Nitrit oksida pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Sampel	Kelompok					
	K1	K2	K3	P1	P2	P3
1	0.121	2.063	2.063	5.948	6.159	5.300
2	1.416	2.063	0.121	4.653	34.946	5.300
3	0.769	2.710	1.416	6.595	20.552	5.948
4	0.769	2.710	0.121	5.300	7.159	5.300
5	0.769	2.063	1.416	9.184	33.946	4.653
Rerata						

Grafik 1



Untuk uji normalitas data dilakukan uji *Saphiro-Wilk*, dikarenakan kelompok K2 tingkat signifikansinya 0,006 ( $p < 0.005$ ) maka diketahui distribusi data tidak normal, sehingga dilakukan uji analisa *Kruskal Wallis* dengan hasil berbeda bermakna pada seluruh kelompok perlakuan ( $p = 0.000$ ), kemudian hasil tersebut dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. ( Pada tabel 3 )

Dari hasil uji analisa antar 2 kelompok menggunakan *Mann Whitney* diperoleh seperti pada tabel 2

Tabel 2 . Hasil uji *Mann Whitney*

KELOMPOK	K1	K2	K3	P1	P2	P3
----------	----	----	----	----	----	----

K1	-	0.007*	0.588	0.008*	0.008*	0.007*
K2	0.007*	-	0.017*	0.008*	0.008*	0.007*
K3	0.588	0.017*	-	0.009*	0.009*	0.008*
P1	0.008*	0.008*	0.009*	-	0.047*	0.278
P2	0.008*	0.008*	0.009*	0.047*	-	0.008*
P3	0.007*	0.007*	0.008*	0,278	0.008*	-

ket: \* bermakna

## PEMBAHASAN

Dari perlakuan yang diberikan didapatkan peningkatan produksi NO makrofag pada kelompok P1, P2, P3 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun jumlah produksi NO makrofag pada kelompok P3 mengalami penurunan dibandingkan kelompok P1 dan P2. Hal tersebut dikarenakan dosis yang digunakan melebihi dosis efektif yaitu 240 mg. Pada dosis tersebut didapatkan kandungan *Hedyotis corymbosa* yang dapat larut di dalam air dalam jumlah yang besar, sehingga fraksi yang dapat larut dalam air menurunkan fagositosis yang akan berdampak pada penurunan produksi NO makrofag.

Hal di atas sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya kalau fraksi *Hedyotis corymbosa* yang larut dalam air menyebabkan stimulasi respon imun humoral dan menekan fagositosis, dan fraksi residu menyebabkan stimulasi respon imun seluler.<sup>10</sup> Pada infeksi *Salmonella Typhimurium* salah satu mekanisme untuk melawan bakteri intraseluler adalah dengan produksi NO oleh makrofag. Makrofag bila dirangsang oleh  $IFN_\gamma$ ,  $TNF_\alpha$ , interleukin dan lipopolisakarida (LPS), transkripsi gen yang meninduksi iNOS (inducible NO sintase) meningkat, akibatnya dihasilkan NO dalam jumlah besar.<sup>3,4</sup> Kandungan senyawa kimia rumput mutiara yang dilaporkan oleh beberapa peneliti adalah asam oleanolat, asam ursolat, sitosterol, stigmasterol, asperulosida, asam asperulosidat, scandosida dan flavanoid.<sup>6</sup> Asam oleanolat dan asam ursolat telah terbukti

memiliki efek antiinflamasi dan antitumor, serta memacu fungsi imunitas tubuh.<sup>11</sup> Jadi di dalam *Hedyotis corymbosa* terdapat zat-zat yang dapat menstimulasi produksi NO seperti golongan flavanoid.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. KESIMPULAN**

1. Pemberian ekstrak *Hedyotis corymbosa* mempunyai pengaruh terhadap produksi NO makrofag mencit *Balb/c*
2. Terdapat peningkatan produksi NO makrofag mencit *Balb/c* yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* pada pemberian *Hedyotis corymbosa* dosis bertingkat

### **B. SARAN**

Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak *Hedyotis corymbosa* terhadap produksi NO makrofag pada mencit yang diinokulasi sel kanker

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kepala Bagian dan seluruh staf Bagian histologi dan Laboratorium Bioteknologi FK Undip.
2. dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes selaku pembimbing yang telah membimbing dan membantu dalam pelaksanaan penelitian maupun penyusunan karya tulis.
3. dr. Neni Susilaningsih, Msi yang telah membimbing dan membantu dalam pelaksanaan penelitian maupun

penyusunan karya tulis.

4. Kepala Bagian dan seluruh staf Bagian MIPA UGM yang telah sangat membantu pelaksanaan penelitian.
5. Teman – teman satu kelompok penelitian atas kerjasama dan bantuannya.
6. Seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan materil dan spirituil hinnga selesainya karya tulis ilmiah.
7. Seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah ini.

