



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI *GYNURA PROCUMBENS (LOUR.) MERR* TERHADAP
SEKRESI NO MAKROFAG MENCIT *BALB/c* YANG DIINFEKSI *SALMONELLA TYPHIMURIUM***

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

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

**Oleh :
Lia Angelin Adriana
G2A002099**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2006

LEMBAR PENGESAHAN

ARTIKEL ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI *GYNURA PROCUMBENS (LOUR.) MERR* TERHADAP
SEKRESI NO MAKROFAG MENCIT *BALB/C* YANG DIINFEKSI *SALMONELLA TYPHIMURIUM***

Yang telah dipersiapkan dan disusun oleh

Nama : Lia Angelin Adriana

NIM : G2A002099

Telah dipertahankan di hadapan tim penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 27 Juli 2006 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran – saran yang diberikan.

Tim Penguji

Penguji,

Dosen Pembimbing,

dr. Andrew Johan, Msi

dr. Neni Susilaningsih, Msi

NIP. 131 673 427

NIP. 131 832 243

Ketua Penguji,

dr. Helmia Farida, M.kes, Sp.A

NIP. 132 296 274

The effect of Gynura procumbens (Lour.) Merr's Tuber Extract in Secretion of NO by Macrophages of BALB/c Mice Infected With Salmonella typhimurium

Lia Angelin Adriana*, Neni Susilaningsih**

ABSTRACT

Background: *Gynura procumbens (Lour.) Merr*, is one of the traditional ingredients that believed has immunomodulator effect. Its tuber consists of chemical constituents that are able to increase secretion of nitric oxide (NO) by macrophages. The objective of this study is to prove the effect of *Gynura procumbens (Lour.) Merr's tuber*, in secretion of NO by macrophages of BALB/c Mice infected with *Salmonella typhimurium*.

Method: This was an experimental study using the post-test only control group design on BALB/c mice, consists of 24 male mice which were divided into 4 groups. K was the control group which only infected by *S. typhimurium* without treatment, and experiment groups (P1, P2, P3) were treated with *Gynura procumbens (Lour.) Merr's tuber extract* with various doses (10 mg; 20 mg; 40 mg) for 14 days then infected with 10^3 *Salmonella typhimurium* on the 9th day. On 15th day, peritoneal macrophages were isolated to count the concentration of NO using modified Griess method.

Results: There was significant difference in NO concentration between K-P3 ($p=0.001$), P1-P2 ($p<0.001$), P1-P3 ($p<0.001$) and P2-P3 ($p<0.001$). But there was no significant difference between K-P1 ($p=0.291$) and K-P2 ($p=0.078$)

Conclusion: 40 mg *Gynura Procumbens* (Lour.) Merr per oral per day can increase secretion of NO by macrophage of BALB/c Mice Infected with *Salmonella typhimurium*.

Keywords: *Gynura procumbens* (Lour.) Merr, Nitric oxide, macrophages, *Salmonella typhimurium*

* Student of Medical Faculty of Diponegoro's University

** Lecturer of Histology Department Medical Faculty of Diponegoro's University

Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi *Gynura procumbens* (Lour.) Merr Terhadap Sekresi NO Makrofag Mencit BALB/c yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*

Lia Angelin Adriana*, Neni Susilaningsih**

ABSTRAK

Latar Belakang: *Gynura procumbens* (Lour.) Merr merupakan salah satu tanaman tradisional yang diyakini sebagai imunomodulator. Umbi *Gynura procumbens* (Lour.) Merr mengandung senyawa yang dapat meningkatkan sekresi NO makrofag. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan pengaruh Umbi *Gynura procumbens* (Lour.) Merr terhadap sekresi NO makrofag mencit BALB/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Metoda: Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design* pada mencit BALB/c yang terdiri dari 24 ekor mencit jantan, dibagi menjadi 4 kelompok. K merupakan kelompok kontrol yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*, dan kelompok perlakuan (P1, P2, P3) yang diberi ekstrak umbi *Gynura procumbens* (Lour.) Merr dengan dosis bertingkat (10 mg; 20 mg; 40 mg) selama 14 hari yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium* pada hari ke-9 dengan dosis 10^3 . Pada hari ke-15 diambil makrofag intra peritoneal kemudian dihitung konsentrasi NO dengan metode modifikasi Griess.

Hasil: Dengan analisa statistik didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok K-P3 ($p=0.001$), P1-P2 ($p<0.001$), P1-P3 ($p<0.001$) dan P2-P3 ($p<0.001$). Sedangkan antara kelompok K-P1 ($p=0.291$) dan kelompok K-P2 ($p=0.078$) tidak didapatkan perbedaan yang bermakna.

Kesimpulan: Dengan dosis 40 mg peroral perhari, ekstrak umbi *Gynura procumbens* dapat meningkatkan sekresi NO makrofag mencit BALB/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Kata kunci: *Gynura procumbens* (Lour.) Merr, Nitric oxide, makrofag, *Salmonella typhimurium*

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

** Staf pengajar Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi akut usus halus yang disebabkan oleh serovar *Salmonella*.¹ Pada tahun 1892, Löffler mengisolasi *Salmonella typhimurium* dari mencit yang menderita penyakit yang menyerupai demam tifoid. Penyakit ini kemudian disebut “mouse typhoid”, penyakit yang analog dengan demam tifoid yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* pada manusia.^{2,3} *Salmonella typhimurium* merupakan bakteri Gram (-) yang mempunyai faktor virulensi utama berupa lipopolisakarida (LPS) yang dapat menstimulasi respon imun pada inang.⁴ Bakteri ini dapat hidup baik secara intraseluler maupun ekstraseluler, serta dapat menginfeksi dan bertahan hidup pada tipe sel berbeda, yakni makrofag dan hepatosit.^{4,5,6}

Salmonella dapat bertahan hidup dalam makrofag sehingga akan sulit dieliminasi oleh sistem pertahanan tubuh lainnya seperti komplemen dan antibodi. Oleh karena itu, sistem imun menanganinya terutama dengan respons CMI (*Cell Mediated Immunity*), yang terdiri dari CD4+ seperti Th1, CD8, monosit, makrofag dan sel NK. Sel Th1 mensekresi IFN- γ yang mengaktifasi monosit, makrofag sehingga meningkatkan kemampuan presentasi antigen dan proses “killing” terhadap *Salmonella*.^{5,7,8} Makrofag mampu menghancurkan bakteri yang terfagosit dengan membentuk fagolisosom. Bila terjadi ikatan antara mikroba dengan reseptor fagosit, maka reseptor akan mengirim sinyal yang mengaktifasi beberapa enzim dalam fagolisosom yang penting untuk terjadinya *respiratory burst*. *Respiratory burst* meliputi Reactive Oxygen Intermediate (ROI) dan Reactive Nitrogen Intermediate (RNI) yang bersifat toksik bagi mikroba.⁹

RNI berperan dalam fase awal aktivasi proses anti bakteri makrofag.⁴ Ketika makrofag teraktivasi oleh interferon- γ (INF γ), tumor necrosis faktor (TNF- α), interleukin dan lipopolisakarida (LPS), maka nitrogen oksida sintase (NOS), yang mengkatalisis terbentuknya NO akan meningkat.^{10,11} Dengan demikian sejumlah besar NO akan diproduksi.¹¹

Salmonella mampu bertahan hidup dalam makrofag. Hal ini merupakan strategi pertahanan mikroba dan berperan penting dalam virulensi.¹² *Salmonella typhimurium* mengembangkan berbagai strategi untuk menghindari eliminasi oleh fagosit, salah satunya yaitu menghasilkan variasi antigenik.¹ Oleh karena itu, diperlukan imunomodulator yang dapat meningkatkan kemampuan makrofag dalam mengeliminasi bakteri tersebut. Salah satu tanaman tradisional yang dipercaya dapat berfungsi sebagai imunomodulator adalah tanaman daun dewa.¹³

Tanamanan daun dewa, yang memiliki berbagai nama ilmiah seperti *Gynura segetum* (Lour.) Merr, *Gynura pseudochina* DC, dan *Gynura procumbens* (Lour.) Merr, mengandung berbagai komponen kimia seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan tanin. Minyak atsiri bersifat antimikroba dengan cara memacu makrofag dalam memproduksi NO dan menghambat pertumbuhan kuman Gram (+), juga bersifat analgetik dan anti-inflamasi. Berdasar hasil penelitian, diketahui bahwa selain daun tanaman daun dewa, umbi tanaman ini juga dapat digunakan sebagai bahan pengobatan.¹³

Walaupun sudah banyak penelitian mengenai tanaman daun dewa, tetapi penelitian tentang kegunaan umbinya sebagai imunomodulator belum pernah dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai pengaruh pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* terhadap sekresi NO makrofag mencit *BALB/c* yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design* yang menggunakan binatang coba sebagai objek penelitian. Penilaian dilakukan dengan membandingkan hasil observasi kelompok perlakuan dan kontrol.

Populasi penelitian ini adalah mencit jantan strain *BALB/c* berusia 8-10 minggu dengan berat 20-25 gram. Sampel terdiri dari 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Sampel diambil dengan cara *Randomize Control Trial* dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi: mencit *BALB/c* jantan, umur 8-10 minggu, berat badan 20-25 gram, sehat, aktif, tidak ada kelainan anatomis dan telah mengalami adaptasi selama 1 minggu. Besar sampel penelitian ditentukan berdasarkan *Research Guidelines For Evaluating The Safety and Efficacy of herbal medicines* dari WHO, yaitu jumlah mencit pada tiap kelompok minimal 5 ekor. Pada penelitian ini digunakan 6 mencit tiap kelompok perlakuan, sehingga total jumlah sampel sebanyak 24 ekor.

Mencit dikandangkan menurut kelompoknya masing-masing dan diberi pakan standard yang sama serta minum ad libitum.

- Kelompok Kontrol (K) : mencit mendapat pakan standar selama 14 hari, kemudian diinfeksi *Salmonella typhimurium* dengan dosis 10^3 /ml pada hari ke-9 secara intra peritoneal
- Kelompok P1 : mencit mendapat pakan standar dan ekstrak umbi *Gynura procumbens* dengan dosis 10 mg peroral perhari selama 14 hari, diinfeksi *Salmonella typhimurium* dengan dosis 10^3 /ml intraperitoneal pada hari ke-9.
- Kelompok P2 : mencit mendapat pakan standar dan ekstrak umbi *Gynura procumbens* dengan dosis 20 mg peroral perhari selama 14 hari, diinfeksi *Salmonella typhimurium*

dengan dosis 10^3 /ml intraperitoneal pada hari ke-9.

Kelompok P3 : mencit mendapat pakan standar dan ekstrak umbi *Gynura procumbens* dengan dosis 40 mg peroral perhari selama 14 hari, diinfeksi *Salmonella typhimurium* 10^3 /ml intraperitoneal pada hari ke-9.

Pada hari ke-15 mencit dibunuh dengan cara dekapitasi cervical. Selanjutnya dilakukan pengambilan makrofag peritoneal mencit dari tiap kelompok perlakuan, dilanjutkan dengan pengukuran kadar NO makrofag dengan metode modifikasi Griess.

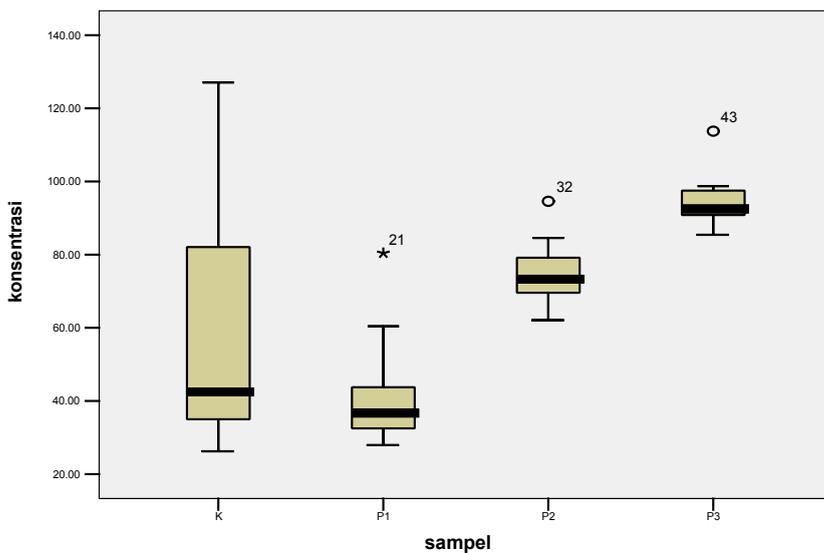
Data hasil penelitian diolah dan dianalisa menggunakan tes non parametrik, yaitu uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney U*.

HASIL

Dari hasil pengukuran kadar NO pada masing-masing kelompok perlakuan dengan metode modifikasi Griess didapatkan data sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil perhitungan konsentrasi NO dengan metode modifikasi Griess

	Mean	SD
K	56.94	31.52
P1	42.01	14.76
P2	74.93	8.8
P3	94.58	7.19



Grafik1. Konsentrasi NO pada tiap kelompok perlakuan

Dari grafik di atas dapat dilihat bahwa rerata konsentrasi NO untuk kelompok P1 lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok K, namun rerata konsentrasi NO P2 lebih tinggi dibandingkan K, demikian pula rerata konsentrasi NO P3 lebih tinggi dibandingkan K. Terdapat peningkatan rerata NO untuk P1, P2, P3 dimana $P1 < P2 < P3$.

Hasil di atas kita uji distribusinya dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan didapatkan distribusi data tidak normal, kemudian kita analisa dengan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing variabel. Dari uji *Kruskal Wallis* didapatkan hasil $p < 0.001$ yang berarti ada perbedaan yang bermakna antar masing-masing variabel. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney U* untuk membandingkan 2 sampel yang independen, didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 2. Nilai p uji non parametrik *Mann Whitney U*

	P1	P2	P3
K	0.291	0.078	0.001*
P1		0.000*	0.000*
P2			0.000*

* Bermakna

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara konsentrasi NO kelompok K dibanding dengan kelompok P1 ($p=0.291$) demikian pula antara kelompok K dan P2 ($p=0.078$). Terdapat perbedaan yang bermakna antara konsentrasi NO kelompok K dengan kelompok P3 ($p=0.001$), demikian pula antara kelompok P1 dibandingkan P2 ($p < 0.001$), kelompok P1 dibandingkan P3 ($p < 0.001$) dan kelompok P2 dibandingkan P3 ($p < 0.001$).

PEMBAHASAN

Data hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan bermakna dari sekresi NO makrofag mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi 40 mg ekstrak umbi *Gynura procumbens* peroral perhari (P3) dibandingkan dengan kelompok mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* tanpa diberi ekstrak umbi *Gynura procumbens* (K). Pada kelompok yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi 20 mg ekstrak umbi *Gynura procumbens* peroral perhari (P2) juga dijumpai kenaikan kadar NO, namun peningkatan ini tidak

bermakna. Perbandingan antar masing-masing kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) menunjukkan peningkatan sekresi NO yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa pada dosis 40 mg peroral perhari, ekstrak umbi *Gynura procumbens* dapat meningkatkan sekresi NO makrofag mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Pada kelompok P1 dijumpai penurunan kadar NO yang tidak bermakna bila dibandingkan dengan kontrol, sedangkan pada kelompok P2 dijumpai peningkatan kadar NO yang tidak bermakna bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa dosis pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* pada kelompok P1 dan P2 kurang efektif untuk dapat meningkatkan aktivitas makrofag dalam mensekresi NO. Dosis yang digunakan pada kelompok P3 dianggap cukup efektif karena dapat meningkatkan kadar NO secara bermakna.

Respon imun seluler (*cell mediated immunity*) memegang peranan yang sangat penting dalam mengeliminasi bakteri intra seluler seperti *Salmonella typhimurium* melalui mekanisme fagositosis oleh makrofag dan lisis terhadap sel yang terinfeksi oleh sel T CD8⁺ dan sel NK.^{5,14} Bakteri yang telah difagosit akan menstimulasi makrofag untuk memproduksi IL-12 yang akan mengaktifkan sel NK. Sel NK kemudian akan mensekresikan INF- γ yang akan mengaktifasi makrofag sehingga makrofag teraktivasi akan mensekresi senyawa-senyawa oksigen reaktif yang bersifat toksik bagi mikroba, salah satunya adalah *nitric oxide* (NO).^{4,9} *Gynura procumbens* memiliki kandungan minyak atsiri yang dapat memacu makrofag dalam memproduksi NO, dengan demikian meningkatkan efektivitas fagosit dalam mengeliminasi bakteri.¹³

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dengan dosis 40 mg peroral perhari, ekstrak umbi *Gynura procumbens* dapat meningkatkan sekresi NO makrofag mencit *BALB/c* yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* dosis bertingkat dengan kelipatan dosis yang lebih besar untuk menentukan dosis terapi yang paling efektif.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas dan LD-50 untuk mengetahui efek samping pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih setulus-tulusnya kepada dr. Neni Susilaningsih atas bimbingannya sehingga penulis dapat menyelesaikan artikel ini dengan baik, seluruh staf Laboratorium Bioteknologi FK

UNDIP, seluruh staf laboratorium Parasitologi FK UNDIP yang telah membantu kelancaran penelitian ini, orang tua, saudara dan teman-teman, atas dukungan moral dan material yang telah diberikan, serta semua pihak yang telah membantu terselesaikannya Artikel Karya Tulis Ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cammie FL, Samuel IM. Salmonellosis. In: Issecbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Fifteenth edition. New York: McGraw-Hill, 1999: 672-6.
2. Smith DT. *Zinsser Microbiology*. New York: Appleton Century Crofts, 1968. Ed.14th: 610.
3. Gao XM, Tite JP, Lipscombe M, Jones SR, Ferguson DJP, Mc Michael AJ. Recombinant Salmonella typhimurium strains that Invade Non Phagocytic Cells are Resistant to Recognition by Antigen Specific Cytotoxic T-lymphocytes, 1992: 3780-9.
4. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*. Fifth edition. Philadelphia: Saunders, 2003. 275-97.
5. Baratawidjaja KG. *Imunologi Dasar* Ed.4, Jakarta: Balai Penerbit FK UI, 2001: 3-56.
6. Le TP, Hoffman SL. Typhoid Fever. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF. *Tropical Infectious Diseases Principles, pathogens and practice*. New York: Churchill Livingstone, 1999: 277-95.
7. Kresno SB. *Imunologi: Diagnosa dan Prosedur Laboratorium*. Edisi 4. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2001: 1-131.
8. Kagaya K, Miyakawa Y, Watanabe K, Fukazawa Y. Antigenic Role of Stress- Induced Catalase of Salmonella Typhimurium in Cell-Mediated Immunity. *Infect.Immun.* 1992;60(5):1820-5.
9. Edwards CK, Ghrasuddin SM, Yunger LM, Lorence RM, Arkins S, Dantzer R, Kelley KW. In Vivo Administration of Recombinant Growth Hormone or Gamma IFN Activates Macrophages: Enhanced Resistance to Experimental Salmonella Typhimurium Infection is Correlated with Generation of Reactive Organ Intermediates. 1992;60(6):2514-21.

10. Garrel C, et al. Detection and Production of Nitric Oxide. In: Favier et al (editors). Analysis of Free Radicals in Biological System. Switzerland: Birkhäuser Verlag Basel, 1995:279.
11. Garrel C, Fontecave M. Nitric Oxide: Chemistry and Biology. In: Favier et al (editors). Analysis of Free Radicals in Biological System. Switzerland: Birkhäuser Verlag Basel, 1995:23.
12. Kauffmann HE. Immune Response to Intracellular Bacteria. In: Rich RR, Fleisher TA, Schwartz BD, Shearer WT, Strober W, editors. Clinical Immunology Principles and Practise. St. Louis: Mosby,1999:503-17.
13. WP Winarto & Tim Karyasari. Daun dewa : Budidaya & Pemanfaatan Untuk Obat, Cet. 1, Jakarta: Penebar Swadaya, 2003: 2-9.
14. Gasem MH. Typhoid fever, clinical and epidemiological studies in Indonesia. Thesis Nijmegen University, Netherlands. Semarang Indonesia Diponegoro University Press, 2001.