



**AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT  
BALB/C YANG DIINFEKSI *Salmonella typhimurium*  
PADA PEMBERIAN EKSTRAK UMBI  
*Gynura procumbens* DOSIS BERTINGKAT.**

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

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

**Oleh**

**Luqman Alwi**

**G2A 002 105**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2006**

**LEMBAR PENGESAHAN  
ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

**AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI  
*Salmonella typhimurium* PADA PEMBERIAN EKSTRAK UMBI *Gynura  
procumbens* DOSIS BERTINGKAT.**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

**LUQMAN ALWI**

**NIM : G2A002105**

Telah dipertahankan didepan tim penguji KTI Fakultas Kedokteran UNIVERSITAS DIPONEGORO Semarang,  
pada **tanggal 26 Juli 2006** dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

Tim Penguji :

**MACROPHAGE PHAGOCYTOSIS ACTIVITIES OF *Salmonella typhimurium* INFECTED  
BALB/C MICE ADMINISTERED GRADUAL DOSAGE OF *Gynura procumbens* TUBER  
EXTRACT**

Luqman Alwi<sup>1)</sup>, Neni Susilaningsih<sup>2)</sup>

**ABSTRACT**

**Background :** Typhoid fever caused by intracellular bacteria *Salmonella typhi* is an interesting health issue in Indonesia. This bacterium could stimulate immune responses, especially cellular immune responses played by macrophage. *Gynura procumbens* is a traditional herb contained active component such as alkaloid and atsiri oils that could drive phagocytosis activities.

**Objective :** This research aim to prove that there were differences in macrophage phagocytosis activities in mouse infected by *Salmonella typhimurium* given *Gynura procumbens* tuber extract with gradual dosage with those do not.

**Method :** Present research was a laboratory experiment with The Post Test Only Control Group Design on Balb/c mice. This research utilize 24 mice divided into 4 groups. PK was control group, P1, P2, P3 were treatment groups with 0.1 mg/day, 0.2 mg/day, 0.4 mg/day *Gynura procumbens* tuber extract respectively during 14 days. At day ninth all group were infected by *Salmonella typhimurium*. Phagocytosis activity examination was executed at day 15<sup>th</sup>.

**Result :** Data analysis showed that macrophage phagocytosis activities on control group average was  $0.84 \pm 0.192$ , while phagocytosis activities on P1, P2, and P3 average were  $0.63 \pm 0.163$ ,  $0.71 \pm 0.40$ , and  $0.51 \pm 0.30$ . Data analyzed by One way ANOVA showed insignificant difference between each groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion :** Providing *Gynura procumbens* on Balb/c strain mice infected by *Salmonella typhimurium* showed insignificant difference on phagocytosis activities.

**Key words :** *Gynura procumbens*, phagocytosis activities, *Salmonella typhimurium*

1) Student of Diponegoro University School of Medicine, Semarang

2) Lecturer staff at Histology Division, Diponegoro University School of Medicine, Semarang

# AKTIVITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI *Salmonella typhimurium* PADA PEMBERIAN EKSTRAK UMBI *Gynura procumbens* DOSIS BERTINGKAT.

Luqman Alwi<sup>1)</sup>, Neni Susilaningsih<sup>2)</sup>

## ABSTRAK

**Latar Belakang :** Demam tifoid yang disebabkan bakteri intraseluler *Salmonella typhi* merupakan masalah kesehatan yang menarik perhatian di Indonesia. Bakteri ini mampu menstimulasi respon imun, terutama respon imun seluler yang diperankan oleh makrofag. *Gynura procumbens* merupakan tanaman obat tradisional yang mengandung banyak komponen aktif diantaranya alkaloid dan minyak atsiri yang dapat memacu aktivitas fagositosis.

**Tujuan :** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya perbedaan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* antara yang diberi ekstrak umbi *Gynura procumbens* dosis bertingkat dibanding kontrol.

**Metode :** Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan *The Post Test Only Control Group Design* pada hewan coba mencit Balb/c. Penelitian menggunakan 24 ekor mencit yang dibagi dalam 4 kelompok : Pk adalah kelompok kontrol, P1, P2, P3 adalah kelompok perlakuan yang secara berurutan diberi 0.1 mg/hari, 0.2 mg/hari, 0.4 mg/hari *Gynura procumbens* selama 14 hari. Pada hari ke 9 semua kelompok diinfeksi *Salmonella typhimurium*. Pemeriksaan aktivitas fagositosis dilakukan pada hari ke 15.

**Hasil :** Hasil analisa data didapatkan bahwa aktivitas fagositosis makrofag kelompok kontrol adalah  $0.84 \pm 0.192$ , sedangkan aktivitas fagositosis makrofag kelompok P1, P2, dan P3 secara berurutan adalah  $0.63 \pm 0.163$ ,  $0.71 \pm 0.40$ , dan  $0.51 \pm 0.30$ . Hasil analisis data menggunakan uji *One way ANOVA* menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna antar masing-masing kelompok ( $p > 0.05$ ).

**Kesimpulan :** Pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* tidak menunjukkan perbedaan bermakna pada aktivitas fagositosis makrofag.

**Kata kunci :** *Gynura procumbens*, aktivitas fagositosis, *Salmonella typhimurium*

<sup>1)</sup> Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

<sup>2)</sup> Staf Pengajar Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

## DAFTAR ISI

|                                | Halaman |
|--------------------------------|---------|
| Halaman Judul Penelitian ..... | i       |
| Halaman Pengesahan .....       | ii      |
| Abstract .....                 | iii     |
| Daftar Isi .....               | v       |
| <br>                           |         |
| Pendahuluan .....              | 1       |
| Metode Penelitian .....        | 2       |
| Hasil Penelitian .....         | 5       |
| Pembahasan .....               | 6       |
| Kesimpulan .....               | 7       |
| Saran .....                    | 7       |

|  |    |
|--|----|
| Ucapan Terima Kasih .....  | 8  |
| Daftar Pustaka .....   | 9  |
| Lampiran 1. Foto Makrofag .....  | 11 |
| Lampiran 2. Dosis Konversi Ekstrak Umbi Daun Dewa .....                                      | 12 |
| Lampiran 3. Prosedur Isolasi Makrofag Mencit .....   | 13 |
| Lampiran 4. Prosedur Pemeriksaan Fagositosis Makrofag dengan<br><i>Latex Beads</i> .....     | 14 |
| Lampiran 5. Tabel Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis<br>Hewan dan Manusia ..... | 15 |
| Lampiran 6. Prosedur Pembuatan Ekstrak Umbi <i>Gynura procumbens</i> .....                   | 16 |
| Lampiran 7. Output SPSS .....  | 18 |

## PENDAHULUAN

Salmonellosis, terutama demam tifoid merupakan masalah kesehatan yang menarik perhatian di seluruh dunia.. Demam tifoid masih merupakan penyakit endemik di Indonesia dengan insidensi sekitar 300-810 kasus per 100 ribu penduduk dengan angka kematian nasional rata-rata berkisar antara 2-3,5 %<sup>1,2</sup>.

Salah satu penyebab demam tifoid adalah *Salmonella Typhimurium*. Bakteri ini merupakan imunogen yang bersifat fakultatif intraselular, sehingga respon imun yang berperan adalah respon imun selular ( *Cell-mediated immunity*) yang diperankan oleh makrofag<sup>3</sup>. Bakteri intraseluler ini akan menstimulasi makrofag untuk memproduksi IL-12 yang akan mengaktifkan sel NK dan mengubah sel Th<sub>0</sub> menjadi Th<sub>1</sub>, yang kemudian akan mensekresikan IFN- $\gamma$  yang memacu pembunuhan mikroba dan lisis sel terinfeksi oleh CD8<sup>+</sup>. Makrofag akan saling mengaktifasi satu sama lain dengan cara memproduksi TNF- $\alpha$ <sup>3,4</sup>.

Daun dewa (*Gynura procumbens*) merupakan tanaman yang berasal dari Birma dan Cina. . Berdasar hasil penelitian, diketahui bahwa selain daun tanaman daun dewa, umbi tanaman ini juga dapat digunakan sebagai bahan pengobatan<sup>5</sup>. Kandungan kimia yang terdapat dalam *Gynura procumbens* diantaranya berupa senyawa alkaloid dan minyak atsiri yang dapat memacu aktivitas fagositosis dan flavonoida yang berfungsi sebagai antibakteri<sup>5,6,7</sup>.

Berdasarkan keadaan diatas, didapat bahwa infeksi *Salmonella* dapat merangsang respon imun seluler tubuh antara lain mengaktifasi makrofag dan kandungan alkaloid dan minyak atsiri dalam *Gynura procumbens*

dapat memacu aktivitas makrofag. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan membuktikan adanya perbedaan aktivitas fagositosis makrofag, yang dinilai dengan indeks fagositosis makrofag pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* antara yang diberi ekstrak *Gynura procumbens* dengan dosis bertingkat dengan yang tidak diberi ekstrak *Gynura procumbens*.

Secara etis tidak mungkin melakukan penelitian eksperimental dengan *Salmonella typhi* pada manusia, maka digunakan mencit yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* karena gambaran klinis yang timbul serupa. Sedangkan mencit yang digunakan adalah mencit strain Balb/c yang rentan terhadap *Salmonella typhimurium*.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan rancangan *The Post Test-only Control Group Design* yang menggunakan binatang percobaan sebagai objek penelitian. Penelitian ini menggunakan mencit Balb/c dengan kriteria inklusi adalah mencit jantan sehat, umur 8- 12 minggu, berat badan 20 – 25 gram sedangkan kriteria drop out adalah mencit mati selama perlakuan.

Sebanyak 20 mencit diadaptasikan selama 1 minggu dengan diberi makan dan minum secara ad libitum. Mencit tersebut dibagi menjadi 4 kelompok secara acak (*Randomized Control Trial*) masing masing terdiri dari 5 ekor. Kelompok pertama (K), mencit hanya diberi pakan standart dalam 14 hari sedangkan kelompok kedua (P1) diberi pakan standart selama 14 hari dan mendapat ekstrak *Gynura procumbens* 0.1 mg/hari, kelompok ketiga (P2) diberi pakan standart selama 14 hari dan mendapat ekstrak *Gynura procumbens* 0.2 mg/hari, kelompok keempat (P3) diberi pakan standart selama 14 hari dan mendapat ekstrak *Gynura procumbens* 0.4 mg/hari. Ekstrak umbi *Gynura procumbens* ditimbang dengan timbangan mikro, lalu diencerkan dengan *aquadest* dengan konsentrasi beragam yaitu 0.4 mg/ml untuk kelompok P1, 0.8 mg/ml untuk kelompok P2, dan 1.6 mg/ml untuk kelompok P3. Jadi, volume pemberian larutan konsentrat untuk masing-masing mencit pada setiap kelompok sebesar 0.25 ml dengan menggunakan alat bantu sonde lambung.

Hari ke-9 perlakuan semua kelompok diinfeksi *Salmonella typhimurium* intraperitoneal. Hari ke-15 perlakuan dilakukan dekapitasi mencit untuk dilakukan pengambilan dan pemeriksaan sampel. Kemudian dilakukan isolasi makrofag dari rongga peritoneum mencit dan dilanjutkan dengan pemeriksaan fagositosis makrofag dengan *latex beads*.

Data yang dikumpulkan merupakan data primer berupa indeks fagositosis yaitu prosentase sel yang

memfagosit *latex beads* yang dihitung pada 200 sel makrofag kali jumlah rata rata partikel *latex* pada sel makrofag yang positif<sup>8</sup>. Variabel bebas berskala rasio berupa pemberian ekstrak *Gynura procumbens* dengan dosis yang digunakan adalah 0.1 mg/hari; 0.2 mg/hari; dan 0.4 mg/hari. Variabel tergantung berskala rasio berupa indeks fagositosis.

Data yang diperoleh dianalisis dengan program SPSS 13.0 *for windows*. Langkah pertama yaitu uji distribusi normalitas menggunakan *Saphiro-Wilk*, didapat distribusi normal ( $p > 0.05$ ). Kemudian dilanjutkan dengan *One way ANOVA* untuk mencari perbedaan antar kelompok perlakuan dengan nilai kemaknaan yang digunakan adalah  $p \leq 0.05$ .

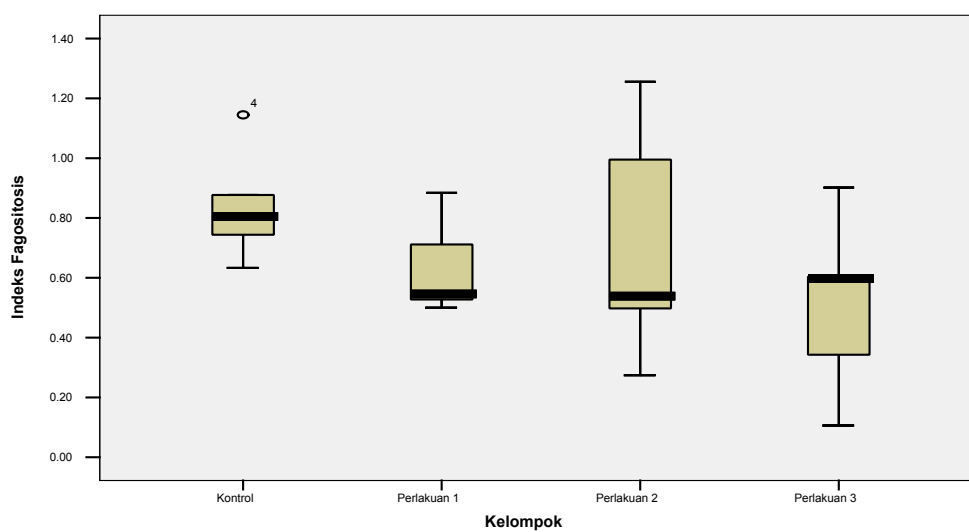
## **HASIL PENELITIAN**

Data yang dikumpulkan dari hasil penelitian berupa perhitungan rata-rata aktivitas fagositosis makrofag masing-masing kelompok, disajikan pada tabel 1.

### **Tabel 1. Rerata indeks fagositosis**

| Kelompok | N | Rerata | Simpang baku | Minimum | Maksimum |
|----------|---|--------|--------------|---------|----------|
| Kontrol  | 5 | 0.84   | 0.192        | 0.63    | 1.14     |
| P1       | 5 | 0.63   | 0.163        | 0.5     | 0.88     |
| P2       | 5 | 0.71   | 0.401        | 0.27    | 1.26     |
| P3       | 5 | 0.51   | 0.30         | 0.11    | 0.90     |

Tabel di atas menunjukkan bahwa rerata indeks fagositosis paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol, yaitu sebesar  $0.84 \pm 0.192$ , sedangkan rerata paling rendah terdapat pada P3, yaitu  $0.51 \pm 0.30$ . Rerata pada kelompok P2 yaitu  $0.71 \pm 0.401$  merupakan rerata paling tinggi diantara kelompok perlakuan lain.



**Gambar 1. Grafik boxplot**

### rerata indeks fagositosis

Uji normalitas menggunakan uji Saphiro-Wilk didapatkan distribusi data normal ( $p > 0.05$ ), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One way ANOVA* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan<sup>9</sup>.

Hasil analisis menggunakan tes *One way ANOVA* menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan  $p = 0.334$ .

## PEMBAHASAN

Sistem pertahanan humoral tidak sepenuhnya efektif pada infeksi kuman *Salmonella typhimurium*, karena kuman yang bersifat fakultatif intraselular ini dapat lolos dari pembunuhan intraselular. Celah dalam pertahanan ini diisi oleh respon imun selular terutama oleh makrofag<sup>3,10</sup>.

Tanaman *Gynura procumbens* dapat dimanfaatkan baik daun dan umbinya sebagai obat tradisional.

Senyawa yang terdapat di dalamnya antara lain alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, dan ethanolic<sup>5,6</sup>. Dosis penggunaan umbi *Gynura procumbens* yang dianjurkan yaitu sebanyak 6-9 gram<sup>11</sup>.

Hasil penelitian didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada rerata indeks fagositosis makrofag antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $p=0,334$ ). Jadi, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* dengan dosis 0.1 mg/hari, 0.2 mg/ hari, dan 0.4 mg/hari selama 14 hari tidak dapat meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag.

Menurut Winarto (2003), kandungan minyak atsiri pada daun *Gynura procumbens* bersifat antimikroba dengan jalan memacu makrofag dalam memproduksi NO, tidak dengan memacu aktivitas fagositosis<sup>5</sup>. Selain itu, Middleton et al (2000), menyebutkan bahwa senyawa flavonoid selain mempunyai efek imunostimulan juga memiliki efek immunosupresan<sup>12</sup>. Adanya efek immunosupresan ini memungkinkan terjadinya hambatan terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada kelompok perlakuan dalam penelitian ini.

## **KESIMPULAN**

Dari penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada aktivitas fagositosis makrofag mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* yang diberi ekstrak umbi *Gynura procumbens* dengan kelompok kontrol.

## **SARAN**

Penelitian lebih lanjut sebaiknya terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kadar kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam umbi tanaman *Gynura procumbens*. Kemudian, dapat dilanjutkan dengan penelitian untuk mengetahui dosis umbi *Gynura procumbens* yang dapat menimbulkan efek immunomodulator pada berbagai penyakit infeksi. Selain itu diperlukan juga penelitian tentang manfaat umbi *Gynura procumbens* untuk memacu aktivitas makrofag dalam memproduksi NO.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Saya panjatkan puji syukur kepada Allah SWT yang telah menolong penyelesaian artikel karya tulis ilmiah ini dari awal sampai akhir. Saya juga mengucapkan terima kasih kepada dr. Neni Susilaningsih, M.Si atas bimbingannya selama penelitian, dr. Ika Pawitra Miranti sebagai reviewer proposal, dra. Meini Suzeri, MA

fakultas MIPA UNDIP atas bantuannya dalam pembuatan ekstrak *Gynura procumbens*. Selain itu juga kepada staf laboratorium Bioteknologi, staf laboratorium Parasitologi, dan staf laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, keluarga, teman-teman sekelompok penelitian dan pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu terlaksananya penelitian dan penyusunan artikel karya tulis ilmiah ini.

## **DAFTAR PUSTAKA**

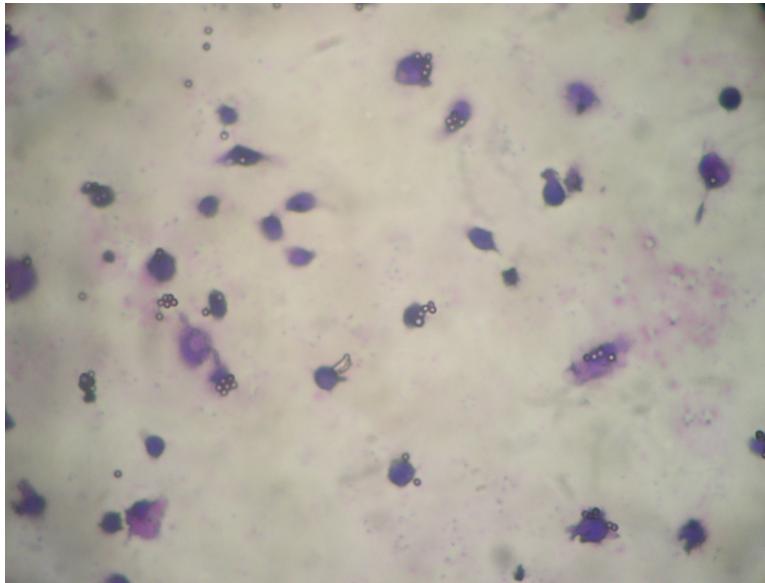
1. Sabir M, Yadi, Firdaus, Hatta M. Perbandingan tes serologi dipstik dengan Widal untuk diagnosis demam tifoid. Kedokteran Trisakti 2003 Sep-Des; 22(3); 83-6.
2. Kasno, Isbandrio B, Indranila, Riyanto B, Damma R, Winarni TI. Demam Tifoid. Belajar Bertolak Dari

- Masalah. Editor : Samekto W, Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang, 2000.
- 3 Baratawidjaja K.G. *Imunologi dasar* Ed.6, Jakarta, Balai Penerbit FK UI, 2004 : 1, 11-4, 32-44, 311-14.
  - 4 Gasem MH. *Typhoid fever, clinical and epidemiological studies in Indonesia*. Thesis Nijmegen University, Netherlands. Semarang Indonesia Diponegoro University Press, 2001.
  - 5 Winarto WP, Tim Karyasari. *Daun dewa : budi daya & pemanfaatan untuk obat*, Cet. 1, Jakarta, Penebar Swadaya, 2003 : 2-9.
  - 6 Constituent : flavonoids. Available from : URL :  
[http://www.phytotherapies.org/constituens\\_cfm?id=61](http://www.phytotherapies.org/constituens_cfm?id=61).
  - 7 Rita Elkins M.H. *Hawaiian Noni, Prize Herb of Hawaii & the South Pacific*. Utah:Woodland Publishing,1998.
  - 8 Coligan JE, Kruisbeek AM, Margulies DH, Shevach EM, Stober W. *Current protocols in immunology*, Vol.2. New York – Singapore : A John Wiley & Sons, Inc, 2000 : 14.6.3.
  - 9 Sopiudin D. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Cetakan 1. PT.Arkans. Januari 2004.
  - 10 Despopoulos A. *Atlas berwarna dan teks fisiologi*. Editor : Silbernagl S, Ed.4 rev. Jakarta, Hipokrates, 1998 : 66-71.
  - 11 Wijayakusuma, H. *Atasi kanker dengan tanaman obat*. cetakan 1. Jakarta, Puspa Sehat, 2004 : 29-30.
  - 12 Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells:implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*. Desember 2000;52 (4): 673-751

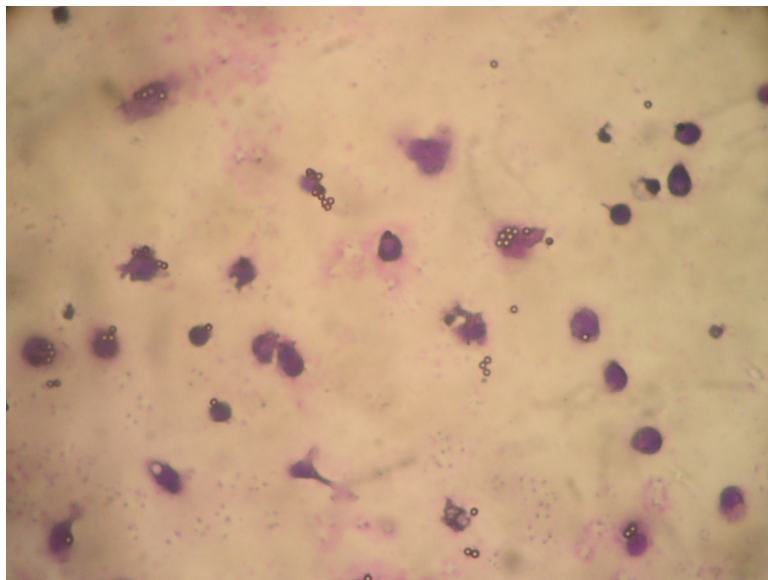
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Foto Makrofag

#### Kontrol (Pembesaran 400x)



#### Perlakuan (Pembesaran 400x)



### Lampiran 2. Dosis Konversi Ekstrak Umbi Daun Dewa

Konversi dosis pada manusia yang berat badannya 70 kg ke mencit yang berat badannya 20 gram adalah 0,0026  
Besarnya dosis umbi *Gynura procumbens* ditentukan berdasarkan dosis yang dianjurkan pada manusia adalah

6-9 gram/hari<sup>11</sup>.

### **Penghitungan**

Umbi tanaman *Gynura procumbens* 6-9 gram

Faktor konversi = 0,0026

Dosis umbi *Gynura procumbens* untuk mencit 20 gram adalah

$$\begin{aligned} &= 0,0026 \times 6000 \text{ mg} \\ &= 15,6 \text{ mg} \sim 16 \text{ mg} / 20 \text{ gram BB} \end{aligned}$$

Umbi *Gynura procumbens* disiapkan dalam 3 besaran dosis kelipatan 2 untuk tiap kelompok, yaitu : 10 mg, 20 mg, dan 40 mg

Hasil Ekstrak 1 kg umbi *Gynura procumbens* sebesar 10 gram, maka

$$\text{Prosentase} = \frac{10}{1000} \times 100 \% = 1 \%$$

Jadi, pemberian dosis ekstrak umbi *Gynura procumbens* adalah :

Kelompok Perlakuan 1 (P<sub>1</sub>) diberi dosis = 10 mg x 1 % = 0,1 mg / 20 gram BB

Kelompok Perlakuan 2 (P<sub>2</sub>) diberi dosis = 20 mg x 1 % = 0,2 mg / 20 gram BB

Kelompok Perlakuan 3 (P<sub>3</sub>) diberi dosis = 40 mg x 1 % = 0,4 mg / 20 gram BB

### **Lampiran 3. Prosedur Isolasi Makrofag Mencit**

Prosedur di bawah ini dilakukan untuk mendapatkan  $5 \times 10^5$  sel/ml.

Mencit dimatikan dengan dislokasi cervix. Mencit diletakkan dalam posisi telentang, kulit bagian perut dibuka dan selubung peritoneumnya dibersihkan dengan alkohol 70%. Kemudian diinjeksikan 10 cc larutan RPMI (*Rosewell Park Memorial Institute*)<sup>3</sup> dingin ke dalam rongga peritoneum. Peritoneum dipijat pelan untuk mendapatkan makrofag yang cukup banyak. Setelah itu cairan disedot kembali sampai habis dan dimasukkan dalam tabung falcon 15 cc. Cairan kemudian disentrifus dengan kecepatan 1200 rpm pada suhu 4 °C selama 10 menit. Bila cairan terkontaminasi darah sel dicuci dengan PBS (*Phosphate-buffered Saline*)<sup>3</sup> sampai bersih.

Setelah supernatan dibuang, ditambahkan 3 ml medium RPMI komplet yang terdiri dari RPMI 1640, FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10% ditambah penicillin pada pellet yang didapat. Sel-sel dihitung dengan hemositometer setelah dilarutkan dalam 3% asam asetat untuk melisiskan sel darah merah, kemudian diresuspensikan lagi

dengan medium RPMI komplet sehingga didapat suspensi sel dengan kepadatan  $2,5 \times 10^6$  sel/ml. Setelah itu sel dikultur dalam medium komplet di dalam *microplate 24 well* yang bawahnya datar dan dasarnya diberi kaca benda (*coverslip*), setiap sumuran 200  $\mu$ l (kepadatan  $5 \times 10^5$  sel/ml), kemudian diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> pada suhu 37 °C selama 30 menit, selanjutnya ditambahkan medium RPMI komplet 1 ml tiap sumuran dan diinkubasikan lagi selama 2 jam. Setelah itu sel dicuci RPMI 2 kali dan ditambahkan medium komplet 1 ml tiap sumuran dan inkubasi dilanjutkan sampai 24 jam.

#### Lampiran 4. Prosedur Pemeriksaan Fagositosis Makrofag dengan *Latex Beads*

- Makrofag yang telah dikultur sehari sebelumnya dicuci dengan RPMI 2x.
- *Latex Beads* diresuspensikan sehingga mendapatkan konsentrasi  $2,5 \times 10^7$ /ml.
- Tambahkan suspensi *Latex* 200  $\mu$ l/sumuran, inkubasi selama 60 menit pada inkubator CO<sub>2</sub> 5% 37 °C.
- Cuci 3x dengan PBS untuk menghilangkan partikel yang tidak difagosit.
- Keringkan pada suhu ruang, fiksasi dengan methanol absolut.
- Setelah kering, coverslip dipulas dengan Giemsa 20% selama 30 menit.
- Cuci dengan aquadest, angkat dari sumuran kultur dan keringkan pada suhu kamar.
- Setelah kering *dimounting* pada *object glass*.
- Kemampuan fagositosis dihitung dari prosentase sel yang memfagosit partikel latex yang dihitung pada 200 sel dikali dengan jumlah rata-rata partikel pada sel yang positif dan dinyatakan sebagai **indeks fagositosis**.

#### Lampiran 5. Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis Hewan dan Manusia (Laurence & Bacharach, 1964)<sup>8</sup>

|                | Mencit<br>20 g | Tikus<br>200 g | Marmot<br>400 g | Kelinci<br>1,5 kg | Kucing<br>2 kg | Kera<br>4 kg | Anjing<br>12 kg | Manusia<br>70 kg |
|----------------|----------------|----------------|-----------------|-------------------|----------------|--------------|-----------------|------------------|
| Mencit<br>20 g | 1,0            | 7,0            | 12,25           | 27,8              | 29,7           | 64,1         | 124,2           | 387,9            |

|                      |        |       |       |      |       |      |      |      |
|----------------------|--------|-------|-------|------|-------|------|------|------|
| Tikus<br>200 g       | 0,14   | 1,0   | 1,74  | 3,9  | 4,2   | 9,2  | 17,8 | 56,0 |
| Marmot<br>400 g      | 0,08   | 0,57  | 1,0   | 2,25 | 2,4   | 5,2  | 10,2 | 31,5 |
| Kelinci<br>1,5 kg    | 0,04   | 0,25  | 0,44  | 1,0  | 1,08  | 2,4  | 4,5  | 14,2 |
| Kucing<br>2 kg       | 0,03   | 0,23  | 0,41  | 0,92 | 1,0   | 2,2  | 4,1  | 13,0 |
| Kera<br>4 kg         | 0,016  | 0,11  | 0,19  | 0,42 | 0,45  | 1,0  | 1,9  | 6,1  |
| Anjing<br>12 kg      | 0,008  | 0,06  | 0,10  | 0,22 | 0,24  | 0,52 | 1,0  | 3,1  |
| Manusi<br>a<br>70 kg | 0,0026 | 0,018 | 0,031 | 0,07 | 0,076 | 0,16 | 0,32 | 1,0  |

## Lampiran 6. Prosedur Pembuatan ekstrak umbi *Gynura procumbens*

### Alat

1. Soklet Ekstraktor
2. *Rotary evaporator*
3. Gelas Beaker
4. Gelas ukur
5. Pengaduk
6. Penyaring
7. Timbangan mikro

### Bahan

1. Umbi *Gynura procumbens*
2. Aquadest

### 3. Etanol teknis

#### **Cara pembuatan**

1. Umbi *Gynura procumbens* yang sudah kering dihancurkan., sehingga berbentuk serbuk simplisia kering.
2. Serbuk simplisia kering tersebut dilarutkan dalam etanol teknis dalam gelas beaker.
3. Campuran serbuk simplisia dan etanol tersebut diekstraksi dengan soklet ekstraktor. Sirkulasi pengambilan bahan aktif dilakukan hingga pelarut tidak berwarna lagi (kira-kira 15 kali ekstraksi).
4. Hasil ekstraksi kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C dalam tekanan 15 mmHg dalam wadah *vacuum*, hingga diperoleh gel pekat yang disebut *crude*
5. *Crude* ini kemudian diencerkan dengan aquadest sesuai konsentrasi 0,1 mg/cc ; 0,2 mg/cc ; dan 0,4 mg/cc

#### **Lampiran 7. Output SPSS**

**Tests of Normality**

| il | K | 25%  | 50%  | 75%  | 80%  | 90%  | 95%  |
|----|---|------|------|------|------|------|------|
|    | F | .300 | .143 | .820 | .100 | .100 | .100 |
|    | F | .582 | .500 | .527 | .500 | .500 | .500 |
|    | F | .714 | .500 | .870 | .500 | .500 | .500 |

**Indeks fagositosis**

