

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI GYNURA PROCUMBENS TERHADAP JUMLAH
KUMAN KULTUR HEPAR PADA MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI SALMONELLA
TYPHIMURIUM**



ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk:
Memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh:

LINA DWI ARYANI
NIM :G2A 002 101

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2006

HALAMAN PENGESAHAN

Telah diuji pada tanggal 29 Juli 2006 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan, artikel Karya Tulis Ilmiah dari:

Nama : Lina Dwi Aryani

NIM : G2A002101

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Universitas Diponegoro, Semarang

Tingkat : Program Pendidikan Sarjana

Bagian : Mikrobiologi

Judul : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI GYNURA PROCUMBENS TERHADAP JUMLAH KUMAN KULTUR HEPAR PADA MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI SALMONELLA TYPHIMURIUM

Pembimbing: dr. Purnomo Hadi, M.Si

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

Semarang, Agustus 2006

The effects of Gynura procumbens tuber extracts on bacterial colony count of liver culture Salmonella typhimurium infected Balb/c mice

Lina Dwi Aryani¹⁾, Purnomo Hadi²⁾

ABSTRACT

Background: Typhoid fever is still spread largely in Indonesia. This disease is caused by *Salmonella typhi*, a facultative intracellular bacterium. *Gynura procumbens* (Daun dewa) tuber supposed has an immunomodulator effect by activating the bacterial killing cell effect by increasing IL-2 activity that eventually increase macrophage activities in eliminating bacteria. The aim of this study was to observe the effects of *Gynura procumbens* tuber extracts on bacterial colony count of liver culture *Salmonella typhimurium* infected Balb/c mice.

Method: This study was a laboratory experimental study, the Post Test-Only Control Group Design and 20 Balb/c male mice as the probation object that randomly grouped into 4 groups. The control group (K) was given standard foods for 14 days. The treatment group (P1, P2, P3) was given standard food and *Gynura procumbens* tuber extract (0.1 mg; 0.2 mg and 0.4mg) per ml solution each day for 14 days. All groups were infected with *S. typhimurium* at 9th days and samples were terminated on day 15th for taken their liver and cultured in SS media. Data were collected from bacterial colony count of the livers. Data was analyzed by using SPSS 12.0 for windows along with Kruskal-Wallis test. Significant level was accepted when $p < 0.05$.

Result: The result shows that the average bacterial colony count from liver in group K $(3.1 \pm 1.8) \times 10^7$ CFU/gram, P1 $(0.15 \pm 0.16) \times 10^7$ CFU/gram, P2 $(0.08 \pm 0.11) \times 10^7$ CFU/gram, and P3 $(0.8 \pm 0.94) \times 10^7$ CFU/gram. These results showed that there were no significant differences between all of the groups.

Conclusion: *Gynura procumbens* tuber extracts supplementation on *Salmonella typhimurium* infected Balb/c mice is not able to reduce the bacterial colony count of the liver.

Key words: *Gynura procumbens*, *Salmonella typhimurium*, bacterial colony count

¹⁾ Student of Medical Faculty, Diponegoro University Semarang.

²⁾ Microbiology's Department of Medical Faculty, Diponegoro University Semarang.

Pengaruh pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* terhadap jumlah kuman kultur hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*

Lina Dwi Aryani¹⁾, Purnomo Hadi²⁾

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyakit demam tifoid masih tersebar luas di Indonesia. Penyakit ini disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang merupakan kuman intraseluler fakultatif. Umbi *Gynura procumbens* (Daun dewa) dipercaya sebagai imunomodulator yaitu dengan meningkatkan aktivitas IL-2 yang selanjutnya akan memacu aktivitas makrofag dalam mengeliminasi bakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* terhadap hitung kuman kultur hepar pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.

Metode: Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *The Post Test-Only Control Group Design* pada hewan coba yaitu 20 mencit jantan Balb/c yang dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok kontrol (K) mendapat pakan standar selama 14 hari. Tiga kelompok perlakuan (P1, P2, P3) mendapat pakan standar dan ekstrak umbi *Gynura procumbens* 0,1 mg; 0,2 mg dan 0,4 mg per oral setiap hari selama 14 hari. Pada hari ke-9 semua mencit diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan pada hari ke-15 mencit diterminasi untuk diambil jaringan hepar kemudian dikultur pada SS agar. Data diperoleh dari perhitungan jumlah koloni kuman hepar. Analisa data dengan SPSS 12.0 *for windows*, dengan uji *Kruskal-Wallis*. Taraf signifikansi diterima bila $p < 0,05$.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah rata-rata koloni hepar pada kelompok kelompok K ($3,1 \pm 1,8$) x 10^7 CFU/gram, P1 ($0,15 \pm 0,16$) x 10^7 CFU/gram, P2 ($0,08 \pm 0,11$) x 10^7 CFU/gram, dan P3 ($0,8 \pm 0,94$) x 10^7 CFU/gram. Hasil ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok percobaan ($p = 0,096$).

Kesimpulan: Pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* tidak terjadi penurunan jumlah koloni kuman pada hepar secara bermakna

Kata kunci: *Gynura procumbens*, *Salmonella typhimurium*, hitung koloni kuman.

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

²⁾ Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

PENDAHULUAN

Penyakit demam tifoid merupakan penyakit endemik di Indonesia demam tifoid merupakan penyakit menular yang menyerang banyak orang sehingga dapat menimbulkan wabah. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* yang ditularkan secara oro-fecal.¹ Insidensi demam tifoid di Indonesia menempati urutan tertinggi di Asia Tenggara dengan insiden 1000 per 100 ribu penduduk.²

Salmonella typhimurium (*S. typhimurium*) merupakan bakteri spesies lain dari jenis *Salmonella* yang bila menyerang tikus patogenesisnya mirip dengan demam tifoid pada manusia.³ Bakteri ini dapat bertahan hidup dan berkembang biak di dalam makrofag sel inang maupun sel hepatosit dan sel splenosit sehingga dapat menghindari mekanisme bakterisidal makrofag.^{3, 4} Sifat inilah yang menyebabkan sistem imun kita sulit untuk membunuhnya. Akan tetapi makrofaglah yang merupakan pertahanan utama terhadap bakteri tersebut. Untuk itu diperlukan suatu zat atau senyawa yang bersifat imunomodulator yang berguna untuk memacu dan meningkatkan kerja makrofag.^{3, 4}

Tingginya angka morbiditas dan mortalitas demam tifoid, menggerakkan berbagai pihak berupaya untuk menyelesaikan problem ini. Berkembang paradigma baru dalam bidang kesehatan, yaitu penggunaan ramuan alami dan obat-obat tradisional sangat terbuka peluang untuk meneliti dan mengembangkan tanaman obat khususnya menemukan bahan obat yang efektif sebagai imunomodulator. Di antara banyak tanaman obat, Daun dewa (*Gynura procumbens*) mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, steroid, triterpenoid, asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam parafumarat, asam p-hidroksi benzoat.⁵ Kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman *Gynura procumbens* di antaranya berupa senyawa alkaloid dan tanin yang dapat memacu aktivitas fagositosis. Selain itu terdapat juga kandungan flavonoid dan minyak atsiri yang memberikan efek sebagai antibakteri.⁶ Menurut penelitian Jiao W. dkk dari Universitas Heilongjiang, flavonoid dapat meningkatkan aktivitas IL-2 sehingga diharapkan dapat meningkatkan aktivitas makrofag dalam mengeliminasi bakteri.⁷

Dengan melihat kandungan yang terdapat dalam *Gynura procumbens*, maka penelitian ini berusaha mengetahui tingkat proliferasi bakteri bila mencit diinfeksi kuman *S. typhimurium* yang diberi sediaan *Gynura procumbens*, dengan melihat jumlah koloni kuman pada organ hepar. Walaupun telah banyak dilakukan penelitian terhadap *Gynura procumbens*, tetapi sejauh ini belum banyak yang mengarah kepada manfaat umbi

Gynura procumbens terutama terhadap kemampuan sebagai imunomodulator pada mencit yang diinfeksi *S. typhimurium*.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini meliputi keilmuan mikrobiologi, imunologi dan farmakologi dengan lokasi penelitian di Laboratorium Parasitologi dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Pengumpulan data dilakukan selama kurang lebih 1 bulan. Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorik dengan pendekatan *The Post Test-only Control Group Design* yang menggunakan binatang percobaan sebagai objek penelitian. Pada penelitian ini digunakan mencit yang diperoleh dari UPHP UNNES. Sampel penelitian diambil dari populasi yang ada secara random dengan kriteria inklusi mencit jantan sehat, strain Balb/c, umur 8-12 minggu, berat badan 20-25 gram, mencit dalam keadaan sehat, telah menjalani adaptasi selama 1 minggu dan kriteria eksklusi yaitu mencit mati dalam masa penelitian. Besar sampel ditentukan berdasarkan panduan penelitian dari WHO yaitu minimal 5 mencit setiap kelompok.

Penelitian ini menggunakan *S. typhimurium* yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dengan dosis yang digunakan sebanyak 10^3 kuman/ml, ekstrak umbi *Gynura procumbens* diperoleh dari toko Jamu Dami dalam bentuk umbi kering yang kemudian diproses dengan blender sehingga menjadi serbuk halus. Dosis yang digunakan adalah 0,1 mg/hari, 0,2 mg/hari dan 0,4 mg/hari. Menggunakan 20 ekor mencit balb/c yang dibagi dalam 4 kelompok sehingga jumlah sampel tiap kelompok perlakuan adalah 5 ekor. Mencit-mencit tersebut diadaptasikan di laboratorium dan diberi ransum makan makan dan minum selama 1 minggu secara *ad libitum*.

Kelompok kontrol (K) hanya mendapat pakan standar dan diinfeksi *S. typhimurium* 10^3 kuman/ml intraperitoneal pada hari ke-9, kemudian pada hari ke-15 mencit dibunuh dan diperiksa jumlah koloni kuman organ hepar.

Kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) mendapat pakan standar dan ekstrak umbi *Gynura procumbens*. Kelompok P1 diberi dosis 0,1 mg/hari, kelompok P2 0,2 mg/hari dan kelompok P3 0,4 mg/hari ekstrak umbi *Gynura procumbens* per oral setiap hari selama 14 hari, pada hari ke-9 diinfeksi 10^3 kuman/ml *S. typhimurium* intraperitoneal, kemudian pada hari ke-15 mencit dibunuh dan diperiksa jumlah koloni kuman organ hepar.

Setelah diambil untuk masing-masing sampel dan dilakukan penimbangan, hepar dihancurkan dalam NaCl fisiologis. Jaringan tersebut dikultur pada media Salmonella-Shigella agar, setelah dilakukan pengenceran

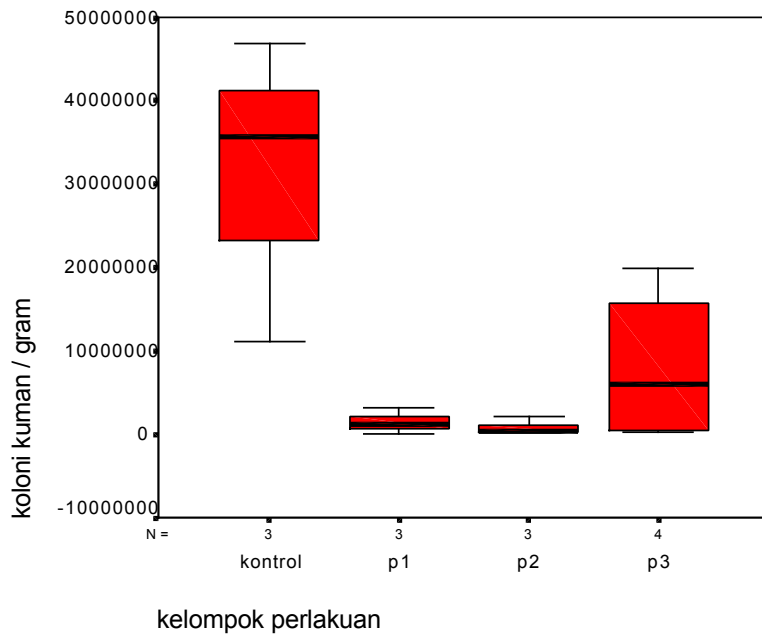
dengan perbandingan 1:10 kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Jumlah koloni yang akan diambil sebagai data adalah yang memenuhi syarat untuk dihitung yaitu yang berjumlah antara 30-300. Jumlah koloni yang memenuhi syarat akan dihitung sebagai jumlah kuman *S. typhimurium* per gram jaringan dengan cara *spreading* dengan rumus hitung koloni kuman yang terdapat pada lampiran 3.

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yang didapatkan dari pembacaan hasil koloni kuman/gram jaringan dari kultur kuman hepar. Data-data yang diperoleh dianalisa dengan program *SPSS 12.0 for Windows*. Data diuji dengan uji *Kruskal-Wallis*. Perbedaan dinyatakan bermakna bila didapatkan $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Penghitungan Koloni Kuman dalam CFU/gram Hepar

kelompok	Jumlah koloni kuman hepar rata-rata	SD	<i>P</i> (Kruskal-Wallis)
Kontrol	$3,1 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	
Perlakuan 1	$0,15 \times 10^7$	$0,16 \times 10^7$	0,096
Perlakuan 2	$0,08 \times 10^7$	$0,11 \times 10^7$	
Perlakuan 3	$0,8 \times 10^7$	$0,94 \times 10^7$	



Gambar 1. Diagram Box-plot koloni kuman per gram hepar

Pada tabel 1 tampak rata-rata koloni kuman hepar pada kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) lebih rendah dibanding kontrol. Rerata jumlah koloni kuman yang paling besar didapatkan pada kelompok kontrol, yaitu $(3,1 \times 10^7)$ CFU/gram. Pada gambar 1 secara umum menunjukkan hitung koloni kuman hepar pada kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) lebih rendah dibanding kelompok kontrol. Terdapat penurunan rerata jumlah koloni kuman untuk P1, P2, P3 dimana penurunan $P3 < P1 < P2$.

Hasil di atas kemudian diuji dengan *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p=0,096$) pada jumlah koloni kuman hepar antar kelompok percobaan yang terdiri dari 4 kelompok. Hasil ini tidak sesuai dengan hipotesis.

PEMBAHASAN

Saat *Salmonella* menginfeksi akan terjadi respon imun alamiah dan seluler. Bakteri ini mampu hidup dan berkembang biak dalam sel fagosit sehingga yang berperan adalah imunitas seluler. Imunitas seluler dapat membunuh bakteri intrasel dengan 2 cara yaitu: (1). Sitokin yang dihasilkan limfosit T, terutama INF- γ yang mengaktifkan makrofag dalam membunuh bakteri intrasel. (2). Limfosit T sitotoksik yang merusak membran sel yang terinfeksi bakteri intrasel.^{8, 9, 10, 11}

S. typhimurium yang masuk ke dalam tubuh akan difagosit oleh makrofag sehingga memacu

membentuk respon dengan memproduksi IL-12. Interleukin yang terbentuk akan mengaktifkan sel *Natural Killer* (NK), menstimulasi perkembangan sel T-h1 dan mengaktifkan sel T CD8⁺ lain. Ketiga jenis sel tersebut akan memproduksi dan mensekresi *Interferon-gama* (IFN γ) yang akan mengaktifasi makrofag menjadi makrofag aktif yang dapat membunuh bakteri intraseluler. Sel T-h1 yang teraktivasi juga memproduksi IL-2 yang bersifat autokrin dan parakrin (sebagai pembantu pertumbuhan limfosit T sitotoksik yang juga meningkatkan imunitas terhadap mikroba intrasel). Selain mengaktifasi makrofag interleukin-12 ini juga akan, mengaktifasi limfosit T menjadi T sitotoksik dan limfosit B memproduksi antibodi. Limfosit T sitotoksik dapat merusak membran sel yang terinfeksi bakteri intraseluler sehingga bakteri tersebut dapat berikatan dengan antibodi dalam plasma. Komplek antigen-antibodi tersebut mengaktifkan komplemen sehingga dapat membunuh bakteri tersebut.^{8, 9, 10, 11}

Dari data hasil penelitian didapatkan penurunan rerata jumlah hitung koloni kuman pada kelompok yang diberi ekstrak umbi *Gynura procumbens* dibanding kelompok kontrol. Didapatkan bahwa penurunan koloni kuman kelompok P3 tidak sebesar P1 dan P2. Hasil ini sejalan dengan penelitian Middleton dkk bahwa flavonoid bisa sebagai imunomodulator dan imunosupresan. Pada dosis yang lebih besar (0,4 mg), flavonoid bersifat imunosupresan sehingga pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* memiliki kelemahan dalam membunuh bakteri bila digunakan secara berlebihan.¹²

Dengan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan perbedaan jumlah koloni kuman yang tidak bermakna antara kelompok perlakuan yang terdiri dari 4 kelompok. Meskipun penelitian yang dilakukan Jiao W. dkk di Universitas Heilongjiang bahwa zat flavonoid (termasuk zat yang terkandung dalam ekstrak umbi *Gynura procumbens*) dapat meningkatkan aktivitas IL-2 sehingga memacu proliferasi Th1 dan T sitotoksik yang akhirnya meningkatkan fagositosis terhadap bakteri *S. typhimurium* oleh makrofag.^{7, 8, 9, 10, 11} Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan hipotesis.

Beberapa hal yang memungkinkan sulit melihat adanya kemaknaan dari hasil penelitian ini dikarenakan pelaksanaan kultur jaringan dimulai pada pengenceran 10⁻³ dan tidak dilakukan sejak pengenceran awal yaitu 10⁻¹, dan juga pengenceran bertingkat yang lebih besar jumlahnya tidak dilakukan sehingga pada hasil kultur ada sebagian media yang jumlah koloni kumannya <30 dan >300 tidak dapat dimasukkan dalam perhitungan.

Pada penelitian ini terjadi pengurangan jumlah sampel percobaan karena adanya mencit yang mati

pada masa perlakuan, yaitu kelompok kontrol tersisa 3 mencit dan kelompok P1 tersisa 4 mencit, di mana 2 ekor mencit kontrol dan 1 ekor mencit P1 ditemukan mati pada hari ke-15. Kematian mencit ini tidak langsung diotopsi karena terjadi di luar jangkauan yaitu waktu (jam) kematian tidak terdeteksi. Kekurangan sampel dapat mempengaruhi hasil rata-rata koloni kuman, secara otomatis juga mempengaruhi hasil analisa statistik penelitian ini.

KESIMPULAN

Pada pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* pada mencit Balb/c yang diinokulasi *S. typhimurium* tidak terjadi penurunan jumlah koloni kuman pada hepar secara bermakna.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* pada hewan coba melalui hitung kuman hepar tetapi dengan melakukan pengenceran dimulai 10^{-1} dan dilakukan pengenceran dengan variasi yang lebih banyak. Juga diperlukan penelitian serupa dengan jumlah mencit yang lebih banyak untuk mengantisipasi kekurangan sampel akibat kriteria eksklusi yaitu mencit yang mati pada masa perlakuan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis ingin memanjatkan ucapan syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya. Penulis juga ingin menyampaikan banyak terima kasih kepada dr. Purnomo Hadi, dr. Helmia Farida selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktunya untuk mengarahkan dan membimbing penyelesaian penulisan artikel karya tulis ilmiah ini. Serta ucapan terima kasih kepada dosen-dosen reviewer, staf laboratorium Parasitologi dan Mikrobiologi FK UNDIP yang turut membantu dalam penyelesaian artikel karya tulis ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Juwono R. Demam Tifoid. In: Noer MS, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam. 3th ed. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2003. p. 435-441
2. Pang T, Bhutta 2A, Finlay BB, Altwegg M. typhoid fever and other salmonellosis: a continuing chaitange.

3. Gao XM, John P. tite, Martin L. Recombinant Salmonella typhimurium strains that invade nonphagocytic cells are resistant to recognition by antigen-specific cytotoxic T lymphocytes. *Infection and immunity*. 1992. 60: 3780
4. Jawetz E, Melnick JL, Anelberg EA. Batang gram negatif enterik. In Setiawan I, editor. *Mikrobiologi kedokteran*. Edisi 20. Jakarta:EGC, 1996. 299-303
5. Winarto H, Suharmiati. *Khasiat dan manfaat daun dewa dan sambung nyawa*. cetakan I. Jakarta: Agromedia Sehat, 2003. 1-5
6. Rochman Naim. Senyawa antimikroba dari tanaman. 5 Desember 2004. available at: <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0409/15/ilpeng/1265264.htm>
7. Jiao Y, Wen J, Yu X. Influence of flavonoid of Astragalus membranaceus's stem and leaves on the function of cell mediated immunity in mice. Heilong Jiang Univ. April 25th 2006. Available at <Http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed>
8. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology*. 3th Ed. Philadelphia: WB Saunders co, 1997. 342-9
9. Goodman JW. The immune response. In: Stites DP, Terr AL (Eds). *Basic and clinical immunology*, 8th ed. Connecticut: Prentice Hail Int. Inc. 1994. 40-9
10. Schwacha MG, Meissler JJ Jr, Eisenstein TK. Salmonella typhimurium infection in mice induce nitric oxide-mediated immunosuppression trough a natural killer cell-dependent pathway. *Infect immune*; 1998. 66(12): 5862-6
11. Umezawa K, Akaike T, Fuji S, Suga M, Ozawa A. Induction of nitric oxide synthase and xanthin oxidase and their roles in antimicrobial mechanisms against Salmonella typhimurium infection in mice. *Infect immune*; 1997. 65(7): 2932-40
12. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*. 2000.52(4): 673-751

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Konversi Perhitungan Dosis untuk berbagai Jenis Hewan dan Manusia (Laurence & Bacharach; 1964)

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 Kg	Kucing 2 Kg	Kera 4 Kg	Anjing 12 Kg	Manusia 70 Kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 Kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 Kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 Kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 Kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 Kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

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

Penghitungan

Umbi tanaman *Gynura procumbens* 6-9 gram

Faktor konversi = 0,0026

Dosis ekstrak umbi *Gynura procumbens* untuk mencit 20 gram adalah

$$= 0,0026 \times 6000 \text{ mg}$$

$$= 15,6 \text{ mg} \sim 16 \text{ mg}/20 \text{ g BB}$$

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

Hasil ekstrak 1 Kg umbi *Gynura procumbens* sebesar 10 mg maka:

Jadi pemberian dosis ekstrak umbi *Gynura procumbens* adalah:

$$\begin{aligned} \text{Kelompok perlakuan 1 (P1) diberi dosis} &= 10 \text{ mg} \times 1 \% \\ &= 0,1 \text{ mg}/20 \text{ gram BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kelompok perlakuan 2 (P2) diberi dosis} &= 20 \text{ mg} \times 1 \% \\ &= 0,2 \text{ mg}/20 \text{ gram BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kelompok perlakuan 3 (P3) diberi dosis} &= 40 \text{ mg} \times 1 \% \\ &= 0,4 \text{ mg}/20 \text{ gram BB} \end{aligned}$$

Lampiran 3. prosedur Pemeriksaan Hitung Kuman

1. Ambil bagian hepar pada tempat yang sama untuk masing-masing sampel dan dilakukan penimbangan.
2. Hancurkan jaringan dalam mortir dengan menambahkan 1 cc NaCl fisiologis steril.
3. siapkan 100 tabung, 25 sebagai tabung I (tabung induk), 25 sebagai tabung II, 25 tabung III, 25 tabung IV, untuk pengenceran bertingkat dari 10^{-1} hingga 10^{-5} (A,B,C,D,E) yang masing-masing berisi 10 ml NaCl fisiologis steril
4. masukkan 1 ml larutan dari mortir ke tabung I yang diambil dari tabung A dan lakukan homogenisasi menggunakan vortex.
5. Ambil 1 ml larutan tabung I kemudian dimasukkan ke tabung II sehingga telah dilakukan pengenceran 10^{-1} .
6. Ambil 1 ml larutan tabung II kemudian dimasukkan ke tabung III sehingga telah dilakukan pengenceran 10^{-2} dan seterusnya hingga pengenceran 10^{-5} . pada tabung V diambil 1 ml untuk dibuang.
7. Inokulasikan 0,1 ml dari masing-masing tabung II, III, IV pada media SS agar, kemudian inkubasikan dalam inkubator 37° selama 24 jam.
8. Hitung jumlah koloni kuman pada masing-masing media yang berisi 30-300 Cfu.
9. Hitung Cfu/gram jaringan dengan rumus sebagai berikut:

Lampiran 4. 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 oC dalam tekanan 15 mmHg dalam wadah vacuum, hingga diperoleh gel pekat yang disebut *crude*.
5. *Crude* kemudian diencerkan dengan aquadest sesuai konsentrasi 0,1 mg/cc; 0,2 mg/cc; dan 0,4 mg/cc.

Lampiran 5. Jumlah koloni kuman *S. typhimurium* hasil pengamatan kultur

Kelompok	Berat hepar (gram)	Pengenceran		
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
kontrol	1.9779	215	216	257
kontrol	1.8292	293	194	176
kontrol	1.5234	159	94	41
p1	1.4784	0	0	0
p1	1.9121	793	604	438
p1	2.2291	155	39	6
p1	2.3915	364	76	18
p2	1.7623	168	56	11
p2	1.5941	8	2	0
p2	1.6161	5	1	2
p2	2.1472	42	7	14
p2	1.712	42	31	18
p3	1.6292	810	747	852
p3	1.38	542	274	361
p3	2.1124	332	243	72
p3	1.8065	56	3	14
p3	1.8125	106	20	5

Lampiran 6. Output SPSS

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

k	k	3	11.33
	p	3	2.00
	p	3	4.00
	p	4	7.20
	T	13	

Test Stat

C	0.325
b	3
A	0.00.