



Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi *Gynura procumbens* Terhadap Hitung Kuman Organ Limpa 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

Disusun oleh
Lisa Silvani
NIM : G2A 002 104

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2006

PENGESAHAN

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi *Gynura procumbens* Terhadap Jumlah Koloni Kuman Pada Organ Limpa Mencit BALB/C yang Diinfeksi Oleh *Salmonella typhimurium*

Disusun oleh:
LISA SILVANI
G2A 002 104

Telah dipertahankan di depan tim penguji KTI Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 29 Juli 2006 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan

Penguji

Ketua Penguji

Dr. Nyoman Suci, M. Kes, SpPK
NIP. 132 163 891

Dr. Andrew Johan, M. Si
NIP. 132 673 427

Pembimbing

Dr. Purnomo Hadi, M. Si
NIP. 131 803 126

The Effect Of *Gynura procumbens* Diet To The Bacteria Colonies Sum In BALB/C Mice Spleen Infected by *Salmonella typhimurium*

Lisa silvani*, Purnomo Hadi**, Helmia Farida**

ABSTRACT

Background: Indonesia is an endemic area for typhoid fever. *Gynura procumbens* which is usually called as 'god leaves' is known to have an immunomodulator effect. The component inside can increase IL-2 activities which eventually increase macrophage activities in eliminating bacteria. This research purpose is to examine the bacteria colonies sum in spleen which is infected by *Salmonella typhimurium* and has been given *Gynura procumbens* diet.

Method: This laboratory observational research use 20 BALB/C mice which is divided into 4 groups. K was control group which only infected by *S. typhimurium* without treatment, and experiment groups (P1, P2, P3) were treated with *Gynura procumbens* (Lour) Merr's root extract with different doses (0,1mg; 0,2mg; 0,4mg) for 14 days which infected by 10^3 *Salmonella typhimurium* on the 9th day. Each groups has 5 mice. In the 15th day all groups are terminated and bacteria culture on SS Agar is made. Data formed as bacteria colonies sum (Cfu/gram) is analyzed and presented as table.

Result: In control group the mean bacteria colonies sum is 94067059,28. While in the P1 group the mean bacteria colonies sum is 39420130,13. P2 and P3 group each has 213761658,42 and 163264237,59 mean bacteria colonies sum.

Conclusion: the analyzed data doesn't show significantly differences in bacteria colonies sum between the control group and the three research group. It can be conclude that the given of *Gynura procumbens* tuber extract can't decrease the sum of spleen's bacteria colonies.

Keywords: *Gynura procumbens*, *Salmonella typhimurium*, Hitung Kuman

* College student Of Diponegoro Medical Faculty

**Lecturer Staff Of Microbiology Diponegoro Medical Faculty

Pengaruh Pemberian Ekstrak umbi *Gynura procumbens* Terhadap Jumlah Koloni Kuman Organ Limpa Mencit BALB/C Yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*

Lisa Silvani*, Purnomo Hadi**,Helmia farida**

ABSTRAK

Latar Belakang: Indonesia merupakan daerah endemis untuk demam tifoid. *Gynura procumbens* atau yang dikenal sebagai daun dewa diketahui memiliki efek immunomodulator. Senyawa yang dikandungnya dapat meningkatkan aktivitas IL-2 yang selanjutnya akan memacu aktivitas makrofag dalam mengeliminir bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menilai jumlah koloni kuman pada organ limpa yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi diet ekstrak umbi *Gynura procumbens*.

Metode: Penelitian observasional laboratorik ini menggunakan 20 ekor mencit Balb/c yang dibagi menjadi 4 kelompok. K merupakan kelompok kontrol yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*, dan kelompok perlakuan (P1, P2, P3) yang diberi ekstrak umbi *Gynura procumbens* dengan dosis bertingkat (0,1mg; 0,2mg; 0,4mg) selama 14 hari yang diinfeksi dengan *Salmonella typhimurium* pada hari ke 9 sebanyak 10^3 . Masing – masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Pada hari ke – 15 dilakukan terminasi dan dilakukan penanaman kuman pada SS agar. Data berupa jumlah kuman (cfu/gram) dianalisa secara analitik dan disajikan dalam bentuk tabel.

Hasil: Pada kelompok kontrol rata – rata jumlah koloni kuman sebesar 94067059,28. Rata – rata kelompok P1 sebesar 39420130,13. Sedang untuk kelompok P2 dan P3 masing – masing sebesar 213761658,42 dan 163264237,59.

Kesimpulan: Dari hasil analisa secara statistika menggunakan uji Kruskal Wallis tidak didapatkan perbedaan bermakna pada jumlah koloni kuman antara kelompok kontrol dan ketiga kelompok perlakuan. Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak umbi *Gynura procumbens* dengan dosis 0,1 mg/ml;0,2mg/ml;0,4mg/ml tidak dapat menurunkan jumlah koloni kuman pada organ limpa.

Kata Kunci: *Gynura procumbens*, *Salmonella typhimurium*, Hitung Kuman

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

** Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu daerah endemis untuk demam tifoid. Dengan angka kejadian setiap tahunnya berkisar antar 600.000 – 1.500.000 kasus, penyakit saluran pencernaan ini dapat menyebabkan hingga 50.000

kematian per tahun.¹ Hal ini berkaitan dengan kecepatan perkembangan penduduk, meningkatnya urbanisasi, penyediaan air bersih yang terbatas, penanganan limbah yang kurang memenuhi standar, dan beban kesehatan yang terlalu berat.²

Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi*. *S. typhi* adalah kuman bentuk batang, bersifat anaerob fakultatif atau aerob, tidak berspora, dan intraseluler fakultatif.³ Salah satu strain *Salmonella* yang dapat menginfeksi mencit dan bermanifestasi seperti demam tifoid pada manusia adalah *Salmonella typhimurium*.⁴ Mikroorganisme ini dapat ditemukan dalam hati dan limpa mencit 3 – 8 jam setelah infeksi.⁴ Bakteri ini dapat mencegah pembunuhan intraseluler dengan cara menghambat penggabungan antara lisosom dan vakuola.⁵

Respon imun terhadap bakteri intraseluler adalah imunitas seluler. Reaksi yang terjadi antara lain: (1) Penghancuran bakteri yang difagosit oleh makrofag yang diaktivasi oleh sitokin – sitokin yang diproduksi limfosit T dan (2) Lisis terhadap sel yang terinfeksi oleh sel T CD8+ (CTLs) dan sel NK.⁵

Perubahan yang terjadi pada lien yang terinfeksi *S. typhimurium* diantaranya adalah pembesaran, pelunakan, dan pengembungan jaringan lien, sedangkan pada pemeriksaan histopatologik lien juga tampak *splenitis*, nekrosis multifokal, dan sering disertai dengan koloni bakteri. Maka dari itu penurunan hitung kuman organ limpa dapat digunakan sebagai indikator peningkatan system imun melawan infeksi.⁶

Gynura procumbens telah diteliti sebagai obat tradisional yang terbukti dapat meningkatkan aktivitas IL-2.⁷ IL-2 ini selanjutnya akan membantu proliferasi dan diferensiasi sel T menjadi sel T CD8+ dan mensekresi IFN- yang memacu aktivitas makrofag dalam mengeliminir bakteri.⁵ Winarto (2003), kandungan minyak atsiri pada daun *G. procumbens* bersifat antimikroba dengan jalan memacu makrofag dalam memproduksi NO, tidak dengan memacu aktivitas fagositosis⁸.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini berusaha untuk menganalisa pengaruh ekstrak *G. procumbens* dalam menurunkan jumlah koloni kuman pada limpa mencit Balb/c yang diinfeksi *S. typhimurium*.

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai bahan informasi dalam penggunaan ekstrak *G. procumbens* yang berkaitan dengan penyakit infeksi terutama pada bakteri intraseluler. Juga dimaksudkan sebagai data dasar bagi penelitian selanjutnya.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini meliputi lingkup keilmuan mikrobiologi, imunologi, dan farmakologi. Lokasi penelitian ini

bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Parasitologi. Pengumpulan data dilakukan selama kurang lebih 1 bulan. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan pendekatan *The Post test Only Group Design* yang menggunakan binatang percobaan sebagai subjek penelitian. Pada penelitian ini digunakan mencit yang diperoleh dari UPHP UNNES Semarang. 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 dan kriteria eksklusi gerakan mencit tidak aktif, dan tikus mati dalam penelitian. Besar sampel ditentukan berdasarkan panduan penelitian dari WHO yaitu minimal 5 mencit setiap kelompok.

Penelitian ini menggunakan *S. typhimurium* yang diperoleh dari unit Mikrobiologi RS Kariadi Semarang dengan dosis yang digunakan sebanyak 10^3 , ekstrak umbi *G. procumbens* didapat dari toko Jamu Dami dalam bentuk umbi kering yang kemudian diproses dengan blender sehingga menjadi serbuk halus. *G. procumbens* yang telah berbentuk serbuk tersebut kemudian di ekstraksi di MIPA UNDIP dengan prosedur ekstraksi terlampir. Ekstrak umbi *G. procumbens* lalu diencerkan.

Mencit tersebut dikelompokkan menjadi 4 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit yang ditentukan secara acak, lalu dikandangkan per kelompok. Setiap kelompok diberi pakan standar yang sama dan dilakukan penimbangan berat badan sebelum dan sesudah perlakuan.

Kelompok kontrol (K): mencit hanya mendapat diet standar selama 14 hari. Kelompok P1: mencit mendapat diet standar dan ekstrak umbi *G. procumbens* dengan dosis 0,4 mg per oral selama 14 hari. Kelompok P2: mencit mendapat diet standar dan ekstrak umbi *G. procumbens* dengan dosis 0,8 mg peroral setiap hari selama 14 hari. Kelompok P3: mencit mendapat diet standar dan ekstrak umbi *G. procumbens* dengan dosis 1,6 mg peroral selama 14 hari. Pada hari ke-9 semua mencit tersebut diinfeksi 10^3 kuman/ml *S. typhimurium* intraperitoneal. Hari ke-15 semua mencit diterminasi dengan cara dekapitasi dan diambil organ limpanya.

Pemeriksaan hitung kuman dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni kuman pada plate SS Agar yang telah ditanami kuman dengan pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} . Data yang didapat dikonversikan menjadi Cfu/gram dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah Kuman} = \frac{\text{Cfu} \times \text{Pengenceran} \times 10}{\text{Berat Limpa}} \quad \text{Cfu/gram}$$

Data yang telah terkumpul diolah dengan program komputer *SPSS 13 for Windows*. Tiap variabel dianalisa secara analitik dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

HASIL

Pada hari ke 15 masa penelitian terdapat 3 mencit yang mati dengan sebab yang tidak jelas dan tidak dapat dilakukan otopsi karena waktu kematiannya tidak diketahui secara pasti.

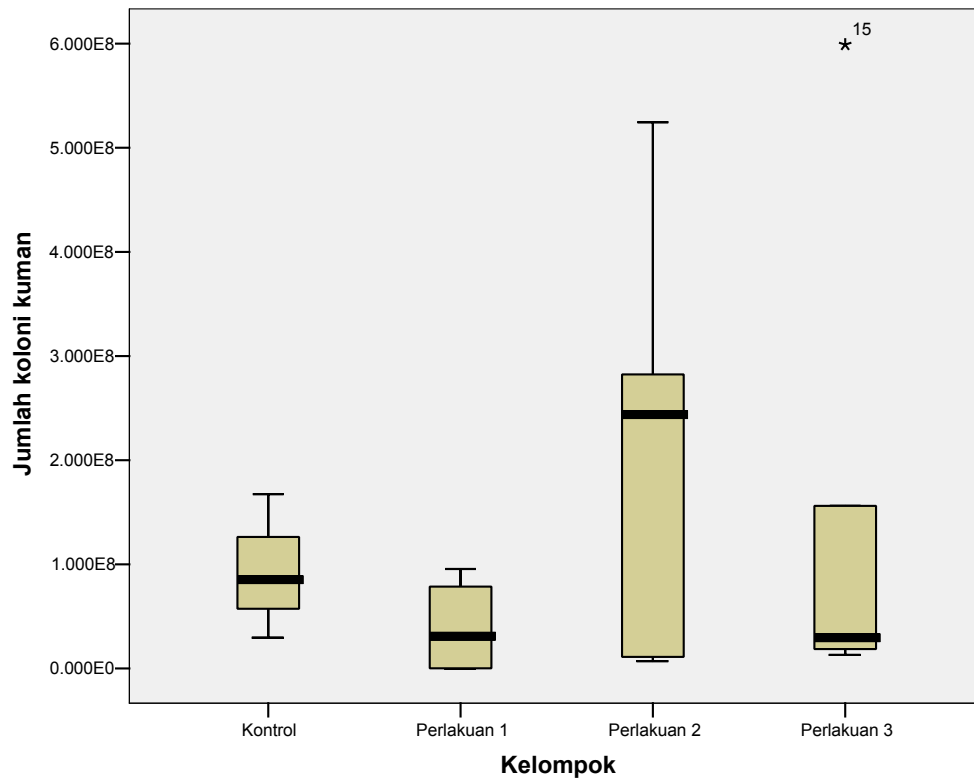
Jumlah koloni kuman secara analitik dapat dilihat pada tabel dan grafik berikut.

Tabel 1. Rerata Jumlah Koloni Kuman

Kelompok	N	Rerata (Standar Deviasi)	Median	Minimum	Maksimum
Kontrol	3	$9,4 \times 10^7$ ($6,9 \times 10^7$) ⁷⁾	$8,5 \times 10^7$	$2,9 \times 10^7$	$16,7 \times 10^7$
Perlakuan 1	3	$3,9 \times 10^7$ ($4,7 \times 10^7$)	$3,1 \times 10^7$	0,00	$9,5 \times 10^7$
Perlakuan 2	5	$21,3 \times 10^7$ ($21,5 \times 10^7$)	$24,3 \times 10^7$	$7,07 \times 10^7$	$52,4 \times 10^7$
Perlakuan 3	5	$16,3 \times 10^7$ ($25,1 \times 10^7$)	$2,9 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$59,9 \times 10^7$

Dari data di atas dapat dilihat rerata tertinggi terdapat pada kelompok Perlakuan 2. Rerata terendah terdapat pada kelompok perlakuan 1. Nilai median tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan 2 dan terendah pada kelompok perlakuan 3. Jumlah koloni kuman terendah terdapat pada kelompok perlakuan 1, sedangkan

jumlah koloni kuman tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan 3.



Gambar 1. Grafik Boxplot Jumlah Koloni Kuman

Berdasarkan jumlah sampel yang tidak merata antar kelompok penelitian maka tidak dilakukan uji normalitas.

Setelah dilakukan analisa menggunakan uji Kruskal wallis didapatkan $p=0,516$. Karena $p>0,05$, maka dapat diambil kesimpulan bahwa tidak didapatkan perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

S. typhimurium merupakan bakteri intraseluler yang dapat hidup dan berkembangbiak dalam fagosit. Untuk mengeliminasi diperlukan mekanisme sistem imun seluler. Variabel respon imun seluler yang dinilai dalam penelitian ini adalah jumlah koloni kuman pada organ limpa.

Tanaman *G. procumbens* dapat dimanfaatkan baik daun dan umbinya sebagai obat tradisional. Senyawa yang terdapat di dalamnya antara lain alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, dan etanolik.⁸ Dosis penggunaan umbi *G. procumbens* yang dianjurkan yaitu sebanyak 6-9 gram.⁹

Tingginya jumlah koloni kuman pada penelitian ini disebabkan oleh karakteristik organ limpa itu sendiri. Pada jaringan limpa yang terinfeksi *S. Typhi* terjadi proliferasi mononukleus fagosit di pulpa merah karena

kuman *S. Typhii* bersarang dan mengakibatkan pembesaran limpa (splenomegali). Berdasarkan penelitian sebelumnya splenomegali ini tampak jelas pada minggu kedua setelah infeksi.¹⁰ Splenomegali juga merupakan penemuan klinis yang penting pada sepsis dan mencerminkan penambahan fungsi fagositik.¹¹

Berdasarkan hasil statistika pemberian ekstrak umbi *G. procumbens* pada penelitian ini ternyata tidak memberikan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Hal ini berarti pemberian ekstrak *G. procumbens* dengan dosis 0,4 mg/hari, 0,8 mg/hari, dan 1,6 mg/hari selama 14 hari tidak dapat menurunkan jumlah koloni kuman pada limpa.¹⁰

Pada kelompok perlakuan 1 didapatkan jumlah koloni kuman yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok Kontrol. Hal ini sebagai gambaran adanya interaksi antara komponen sistem imun dalam mengeliminasi *S. typhimurium* ditunjang oleh pemberian *G. procumbens* sebagai imunomodulator.

Sedangkan jumlah koloni kuman pada kelompok perlakuan 2 dan 3 lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok Kontrol. Hal ini tidak sesuai dengan referensi dimana seharusnya terjadi penurunan hitung kuman. Tetapi dari referensi lain yang kami dapatkan dikatakan bahwa flavonoid selain mempunyai efek imunostimulan juga mempunyai efek immunosupresan¹¹, hal ini merupakan salah satu sebab terjadinya peningkatan jumlah koloni kuman pada perlakuan 2 dan 3. Tetapi bagaimana hal ini bisa terjadi belum dapat dijelaskan secara memuaskan oleh karena tidak ada referensi yang menjelaskan tentang hal tersebut.

Penelitian ini hanya menggunakan pengenceran 1000, 10000, dan 100000 sehingga kurang menggambarkan dengan jelas jumlah koloni kuman sebenarnya. Akibatnya jumlah koloni kuman yang kurang dari 30 dan lebih dari 300 akhirnya tidak dapat dimasukkan ke dalam data penelitian. Durasi penelitian yang kurang juga dapat menyebabkan rendahnya respon imun ditandai dengan tidak adanya penampakan splenomegali yang jelas. Jumlah sampel yang kurang dari jumlah sampel minimal tiap kelompok dapat menyebabkan tidak normalnya distribusi data pada penelitian ini. Diharapkan adanya peningkatan pengawasan mencit sehingga pada akhir penelitian jumlah minimal sampel untuk tiap kelompok terpenuhi.

KESIMPULAN

Penelitian ini tidak dapat membuktikan adanya penurunan jumlah koloni kuman *S. typhimurium* oleh *G. procumbens*. Hal ini dapat disebabkan adanya efek immunosupresan pada *G. procumbens*.

SARAN

Perlunya penelitian lebih lanjut dengan :

1. Sampel yang lebih banyak
2. Hitung kuman pada jumlah pengenceran yang lebih bervariasi
3. Pengawasan mencit yang lebih ketat selama proses adaptasi
4. Variasi pemberian dosis
5. Waktu penelitian yang lebih lama

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. Purnomo Hadi dan dr. Helmia Farida atas bimbingannya selama penelitian, dr. Andrew Johan sebagai reviewer proposal, dra. Meini Suzeri, MA fakultas MIPA UNDIP atas bantuannya dalam pembuatan ekstrak *Gynura procumbens*. Selain itu juga kepada staf laboratorium Mikrobiologi, staf laboratorium Parasitologi, dan staf laboratorium Bioteknologi 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. Keuter m. Experimental Studia on Pathogenesis of Salmonella Infection. Thesis. Katholike Universiteit Nijmegen, 1998.
2. Lesser, Cammie F., Miller. Salmonellosis. Di dalam: Dennis L. Kasper, editor. Harrison's: Principle of Internal Medicine. Edisi 16. Volume 1. Cetakan I. United State Of America: Mc Graw Hill:2005.
3. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Editor: Bonang G. Edisi 16. Jakarta: EGC, 1992: 278 – 83.
4. Life – Threatening Infantile Diarrhea from Fluoroquinolon – Resistant Salmonella Enterica Typhimurium With Mutation in Both *gyrA* and *parC*. Available from : <http://www.medscape.com/viewarticle/448903?src=search>. Accessed April, 21, 2005.
5. Keusch GT. Salmonellosis. In: Fauci et al. Principles of Internal Medicine. 14th ed. USA:Mc Graw Hill Companies Inc, 1998: 950 – 3.
6. Robbins SL, Kumar V. Patologi I. Terjemahan Staf pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: EGC;1998:234-98.
7. Khasiat Tanaman Obat Daun Dewa. Available from: http://www.iptek.net.id/ind/cakra_obat/tanamanobat.php?id=34. Accessed April 18, 2005.
8. Winarto WP, Tim Karyasari. Daun dewa : budi daya & pemanfaatan untuk obat, Cet. 1, Jakarta, Penebar Swadaya, 2003 : 2-9.
9. Wijayakusuma, H. Atasi kanker dengan tanaman obat. cetakan 1. Jakarta: Puspa Sehat, 2004 : 29-30.
10. Rahma P. Awas gejala demam tifoid di musim kemarau. Available from URL:<http://www.pediatric.com/artikel/demamtifoid.htm>. Accessed 21 Juli 2004.
11. Bellanti JA. Immunologi III. Penerjemah Wahab AS. Yogyakarta:Gajah Mada University Press, 1993.
12. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer.

Lampiran 1. Tabel Jumlah Koloni Kuman Pada Hitung Kuman Limpa Mencit Balb/c

Kode Tikus	Berat Limpa (g)	Jumlah Koloni Kuman		
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
K1	0,08	199	42	34
K2	0,24	227	71	52
K3	0,24	114	41	16
P1(1)	0,116	153	128	23
P1(2)	0,07	0	0	0
P1(3)	0,09	300	19	83
P1(4)	1,23	44	28	0
P2(1)	0,55	401	248	185
P2(2)	0,16	12	35	90
P2(3)	0,10	32	32	30
P2(4)	0,13	92	24	19

P2(5)	0,14	196	94	91
P3(1)	0,23	300	305	400
P3(2)	0,218	326	342	432
P3(3)	0,11	80	33	25
P3(4)	0,16	318	217	170
P3(5)	0,20	117	106	347

Lampiran 2. Hasil Analisa Menggunakan Uji Statistika Kruskal Wallis dan Explore

Ranks

1	K	3	10.33
	F	4	27.2
	F	2	10.0
	F	2	04.0
	T	17	

Test Stat

C	2.582
b	3
A	2.10

1	K	M	J	4	1.525
		0	L	9408708	
		1	B	-783317	
		2	J	586482	
			B		
		M		8253047	
		V		4	
		2		803808	
		M		58803307	
		M		800	
		F		1328480	
		1			
		2			1.525
	F	K			
		M		3845013	25
		0	L	-38482	
		1	B		
		2	J	114788	
			B		
		2		384150	
		M		3108548	
		V		5	
		2		473825	
		M			
		M		000	
		F		82222222	
		1		82222222	
		2		87018047	
		K			1.014
		M			5.618
	F	0		513811	8
		1	L	-83811	
		2	B		
			J	481424	
			B		
		2		507880	
		M		543114	
		V		48	
		2		51228	
		M		7078823	
		M		800	
		F		2145307	
		1		38458274	
		2			1.013
	F	K			5.000
		M		183584	11
		0	L	-14788	
		1	B		
		2	J	474257	
			B		
		2		147388	
		M		5845200	
		V		85	
		2		52088	
		M		13043478	
		M		800	
		F		28801805	
		1		38178822	
		2			1.013
		K			3.818
					5.000

L

Lampiran 3. 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 4. 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/hari¹¹.

Penghitungan

Umbi tanaman *Gynura procumbens* 6-9 gram

Faktor konversi = 0,0026

Dosis umbi *Gynura procumbens* untuk mencit 20 gram adalah

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

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

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 (P₁) diberi dosis = 10 mg x 1 % = 0,1 mg / 20 gram BB

Kelompok Perlakuan 2 (P₂) diberi dosis = 20 mg x 1 % = 0,2 mg / 20 gram BB

Kelompok Perlakuan 3 (P₃) diberi dosis = 40 mg x 1 % = 0,4 mg / 20 gram

Lampiran 5. 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