

## **PENGARUH PEMBERIAN *GYNURA PROCUMBENS (LOUR) MERR* TERHADAP PRODUKSI *REACTIVE OXYGEN INTERMEDIATED*, PRODUKSI *NITRIC OXIDE* DAN KOLONI KUMAN ORGAN HEPAR MENCIT Balb/c YANG DIINFEKSI *SALMONELLA TYPHIMURIUM***

Aryoko Widodo

Staf Pengajar Ilmu Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Demam tifoid merupakan penyakit serius yang disebabkan oleh *Salmonella typhimurium*, terjadi di seluruh bagian dunia termasuk di Indonesia. Bakteri intraseluler ini mampu menstimulasi respon imun tubuh terutama respon imun seluler. *Gynura procumbens (lour) merr* merupakan tanaman obat tradisional yang mengandung banyak komponen aktif diantaranya flavonoid, mampu berperan sebagai imunomodulator. **Tujuan :** Mengetahui pengaruh *Gynura procumbens (Lour.) Merr.* terhadap produksi ROI makrofag, produksi NO makrofag, dan koloni kuman organ hepar mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella Typhimurium*. **Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental* dengan *the post test only control group design* dengan menggunakan mencit Balb/c jantan berusia 8-12 minggu dan diadaptasikan selama 1 minggu. Jumlah mencit yang dipergunakan sebanyak 15 ekor yang secara acak dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan (P) dimana 1 kelompok diinfeksi *Salmonella typhimurium* (P1) dan 1 kelompok diinfeksi *Salmonella typhimurium* dan diberi 1,5 mg/hari *Gynura procumbens (lour) merr* (P2).. Pada hari ke-8 semua mencit diinfeksi  $10^5$  CFU *Salmonella typhimurium* intraperitoneal. Hari ke-11 mencit dibunuh dan dilakukan pemeriksaan produksi ROI makrofag, produksi NO makrofag dan jumlah koloni kuman kultur organ hepar. Hasil pemeriksaan dianalisis dengan uji Anova, uji Kruskal Wallis dan uji Mann Whitney pada  $\alpha=0,05$ . **Hasil :** Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok P2 meningkatkan produksi ROI makrofag secara bermakna dibanding P1 ( $p=0,022$ ) dan produksi NO makrofag secara bermakna dibanding P1 ( $p=0,012$ ). Hitung kuman menurun secara bermakna dibanding P1 ( $p=0,019$ ). **Kesimpulan :** Pemberian ekstrak *Gynura procumbens (Lour.) Merr* pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* meningkatkan produksi ROI makrofag, produksi NO makrofag secara bermakna dan mampu menurunkan hitung kuman organ hepar secara bermakna.

**Kata kunci :** *Gynura procumbens (Lour.) Merr.*, ROI NO hitung kuman, *Salmonella typhimurium*.

### **ABSTRACT**

**Background :** Typhoid fever is serious illness caused by *Salmonella typhimurium*. Spread in the world such as Indonesia. This intracellular bacteria can stimulate immunity respon in the body such as cellular mediated immunity. *Gynura procumbens (lour) merr* is one of traditional herbal medicine which contains various active compounds like flavanoid with immunomodlatory effect. **Objective :** To examine the effect of *Gynura procumbens (lolur) merr* on reactive oxygen intermediate production, nitric oxide production and bacterial colony in liver of Balb/c

mice infected with *Salmonella typhimurium*. **Method** : The study was experimental study, using *the post test only control group design* in Balb/c male mice, 8-12 weeks and adapted for 1 week. Five teen mice randomly divided into 2 groups : 1 group , which infected *Salmonella typhimurium* (P1) and 1 group which infected *Salmonella typhimurium* and was given 1,5 mg/day *Gynura procumbens (lour) merr* (P2). All groups were infected with dosage  $10^5$  CFU of *Salmonella typhimurium* at 8<sup>th</sup> days. Samples were executed on 11<sup>th</sup> days for laboratory rest : ROI Production, NO production and bacterial growth of the liver. Collected data were analyzed by using ANOVA, Kruskal Wallis test and Mann Whitney test with significance  $\alpha=0,05$ . **Result** : The result showed that P2 increased ROI production of macrophage significantly compared with P1 and NO production of macrophage increased significantly compared with P1 (  $p=0,012$ ). *Gynura procumbens (lour) merr* decreased bacterial count of liver significantly compared P1 (  $p=0,019$ ). **Conclusion** : *Gynura procumbens (lour) merr* administration in Balb/c infected with *Salmonella typhimurium* increased ROI production of macrophage, NO production of macrophage and could reduced the bacterial count in the liver significantly.

**Key words** : *Gynura procumbens (lour.) merr.*, ROI, NO, Bacterial count, *Salmonella typhimurium*

## PENDAHULUAN

Penyakit demam tifoid sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan yang di daerah tropis terutama di negara-negara berkembang. Angka kesakitan dan kematian penyakit ini di berbagai negara tropik masih cukup tinggi. Di Indonesia, insidensi rata-ratanya mencapai angka 650 kasus per 100.000 penduduk dengan mortalitas yang bervariasi, berkisar antara 3,1 % - 10,4 %.<sup>1</sup>

Penyakit ini disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella typhimurium* .yang merupakan kuman bentuk batang, motil, gram negative, bersifat fakultatif intraseluler yang dapat bertahan hidup dan bahkan

berkembang biak di dalam makrofag, tahan terhadap enzim lisosom dan dapat menghambat fusi *phagosomelisosome* sehingga sulit untuk dibunuh<sup>2-4</sup> maka salah satu cara untuk membunuh kuman ini adalah dengan memacu fungsi makrofag untuk *killling* melalui *respiratory burst* yang antara lain terdiri dari *reactive oxygen ( ROI )* dan *reactive nitrogen intermediate ( RNI )* . Adapun proses *killling* melalui *respiratory burst* ini dapat berlangsung dengan proses oksidatif maupun non-oksidatif , sehingga diproduksi radikal bebas dan *Nitric oxide* (NO). NO merupakan antimikroba yang sangat penting terhadap *Salmonella*. Gugus radikal yang dibentuk oleh NADPH oksidase dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS)

dari makrofag yang teraktifasi diduga berperan kuat sebagai efektor terhadap bakteri *Salmonella*. NADPH oksidase dibutuhkan dalam *killing* beberapa jam pertama setelah fagositosis, sedangkan iNOS berperan dalam fase awal dan berikutnya pada aktifitas antibakterial. Sedangkan

IFN- $\gamma$  berperan secara simultan dalam meningkatkan aktifitas bakteri dengan meningkatkan produksi NO<sup>3,4</sup> Untuk itu diperlukan suatu zat atau senyawa imunomodulator yang mampu memacu dan meningkatkan kemampuan makrofag dalam memproduksi NO untuk mengeliminasi mikroba tersebut. NADPH oksidase dan iNOS dapat bersinergi membentuk molekul antimikroba yang potensial. NO dan O<sub>2</sub><sup>-</sup> (superoksida) yang dapat dimetabolisir menjadi ROI seperti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang sangat toksis, molekul ini berperan penting dalam *killing* oleh makrofag terhadap *Salmonella* karena bersifat bakterisid. Disamping itu iNOS mengkatalisis L-arginin menjadi sitrulin dan NO yang selanjutnya dapat dimetabolisir menjadi *Reactive Nitrogen Intermediates* (RNI)<sup>3,4</sup>

Salah satu tanaman obat yang mempunyai kemampuan untuk membunuh kuman adalah *Gynura procumbens* ( *Lour* )

*merr.*

*Gynura procumbens* ( *lour* ) *merr* mengandung *senyawa flavonoid* yang dapat menginduksi pelepasan interleukin-2 ( IL-2) yang mempunyai peran meningkatkan proliferasi limfosit dan merangsang Lymphokine activated Killer Cell ( LAK ). *Saponin* yang terkandung dalam *gynura* juga mempunyai efek meningkatkan aktivitas makrofag Dengan meningkatnya aktivasi makrofag , maka diharapkan respon imun akan terpacu untuk mengeliminasi bakteri patogen intraseluler ,terutama *Salmonella typhimurium*<sup>5</sup> Melihat kandungan dari *Gynura procumbens* ( *Lour* ) *merr* ini, maka dilakukan penelitian *Gynura procumbens* ( *Lour* ) *merr* terhadap produksi NO, produksi ROI dan jumlah koloni kuman hepar yang dilakukan pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*

## METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain *post test only control group*. Sampel penelitian sebanyak 12 ekor mencit Balb/c, diperoleh dari LPPT UGM. Pemilihan mencit Balb/c dikarenakan mencit ini sensitive terhadap infeksi *Salmonella*

*typhimurium* dan pada usia 8-12 minggu dapat menimbulkan respon imun seluler. Ekstrak *Gynura procumbens* ( Lour ) Merr diperoleh dari LPPT UGM.

Semua mencit strain Balb/C sejumlah 12 ekor, umur 8 - 12 minggu diaklimatisasi di laboratorium selama satu minggu dengan dikandangkan secara individual dan diberi pakan standart dan minum ad libitum.. Kemudian, mencit tersebut dibagi dalam 2 kelompok yang masing - masing terdiri dari 6 ekor mencit dimana..pada kelompok pertama : mencit tidak diberikan 1,5 mg/hari ekstrak daun dewa, (*Gynura procumbens* ( Lour ) Merr) pada hari ke 8 diinfeksi dengan  $10^5$  *Salmonella typhimurium* intra peritoneal dan pada hari ke 11 mencit dibunuh untuk diperiksa produksi ROI makrofag, produksi NO makrofag dan hitung kuman organ hepar Pada kelompok kedua : mencit akan diberikan 1,5 mg/hari ekstrak daun dewa (*Gynura procumbens* ( Lour ) Merr) selama 10 hari. Pada hari ke 8 diinfeksi dengan  $10^5$  *Salmonella typhimurium* intra peritoneal dan pada hari ke 11 mencit akan dibunuh untuk diperiksa produksi ROI makrofag, produksi NO makrofag dan hitung kuman organ hepar.

Data hasil penelitian yang terkumpul kemudian diedit, dikoding dan dientry ke dalam file komputer. Kemudian dilakukan analisis deskriptif dengan dilakukan penghitungan ukuran kecenderungan sentral dan dispersi (mean+ SD/ median + persentil) terhadap produksi ROI, NO dan proliferasi kuman . Hasil analisis deskriptif ditampilkan dalam bentuk tabel silang dan dinarasikan. Data dari tiga kelompok perlakuan tersebut diuji normalitasnya dengan uji Saphiro Wilk Data hasil pemeriksaan ROI, NO dan hitung kuman hepar dilakukan uji hipotesis dengan Kruskal-Wallis, dilanjutkan dengan uji beda antar variable dengan uji Mann – Whitney. Batas derajat kemaknaan yang akan dicapai adalah  $p \leq 0,05$  dengan power penelitian 80 % dan interval kepercayaan sebesar 95% .Semua uji statistik diatas dilakukan dengan menggunakan program komputer SPSS 16 for windows.<sup>6</sup>

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### PRODUKSI ROI MAKROFAG

Hasil dari penghitungan mikroskopik untuk jumlah produksi ROI makrofag adalah sebagai berikut ini.

**TABEL 1** NILAI MEAN DAN SD “  
PRODUKSI ROI MAKROFAG “

KELOMPOK	MEAN	SD
PERLAKUAN 1	45,20	6,22
PERLAKUAN 2	57,20	6,22

Dilihat dari tabel di atas tampak bahwa produksi ROI meningkat pada kelompok yang hanya diberi *Salmonella typhimurium* dan kelompok yang diberi *Gynura procumbens* ( *lour* ) *merr* dan *Salmonella typhimurium*, dimana peningkatan pada perlakuan 2 ( *Gynura procumbens* dan *Salmonella typhimurium* ) lebih tinggi daripada perlakuan 1( *Salmonella typhimurium* tanpa diberi *Gynura procumbens* )

Pemberian *Gynura procumbens* (*lour*) *merr* dengan dosis 1,5 mg/kgBB/hari didapatkan hasil produksi ROI dan NO yang meningkat. Ini dapat terlihat pada kelompok yang diberi *Gynura procumbens* ( *lour* ) *merr* dan *Salmonella typhimurium* peningkatan ROI lebih tinggi dibandingkan kelompok control dan kelompok yang hanya diberi *Salmonella typhimurium* Peningkatan produksi ROI akan menyebabkan peningkatan produksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> dan OH<sup>-</sup>. Produksi O<sub>2</sub><sup>-</sup> menyatakan kapasitas daya

bunuh makrofag yang ada. Kim KI dkk ( 2001 ) bahkan mengutip pendapat Cornutte dkk yang menyatakan bahwa adanya gangguan pada produksi O<sub>2</sub><sup>-</sup> akan menyebabkan eradikasi bakteri<sup>7</sup> Peningkatan ROI dapat diartikan dengan peningkatan aktivitas fagositosis makrofag.

**PRODUKSI NO MAKROFAG**

Hasil dari penghitungan mikroskopik untuk jumlah produksi NO makrofag adalah sebagai berikut :

**Tabel 2** NILAI MEAN DAN SD PRODUKSI  
NO MAKROFAG

KELOMPOK	MEAN	SD
PERLAKUAN 1 (P1)	0,65	0,37
PERLAKUAN 2 (P2)	1,14	0,06

Dilihat dari tabel di atas tampak bahwa produksi NO makrofag meningkat pada kelompok yang hanya diberi *Salmonella tyhimurium* dan kelompok yang diberi *Gynura procumbens* ( *lour* ) *merr* dan *Salmonella typhimurium* , dimana peningkatan perlakuan 2 ( *Gynura procumbens* dan *Salmonella typhimurium* ) lebih tinggi daripada perlakuan 1. *Salmonella typhimurium* tanpa diberi *Gynura procumbens* )

Proses fagositosis makrofag akan membunuh bakteri dengan membentuk NO yang bersifat toksik terhadap bakteri. Pemberian *Gynura procumbens* (lour ) merr dengan dosis 1,5 mg/kgBB/hari didapatkan hasil produksi NO yang meningkat. Ini dapat terlihat pada kelompok yang diberi *Gynura procumbens* (lour ) merr dan *Salmonella typhimurium* peningkatan NO lebih tinggi dibandingkan kelompok control dan kelompok yang hanya diberi *Salmonella typhimurium* Meningkatnya produksi NO ini juga berkaitan dengan meningkatnya aktifitas makrofag dalam proses *killing* terhadap *Salmonella typhimurium*.

### HITUNG KOLONI KUMAN ORGAN HEPAR

Pertumbuhan kuman pada kultur organ hepar adalah penghitungan jumlah koloni kuman yang dinyatakan dalam CFU/gram jaringan. Hasil dari penghitungan jumlah koloni bakteri pada organ hepar adalah sebagai berikut ini.

**TABEL 3 PERBEDAAN JUMLAH KOLONI KUMAN HEPAR**

KELOMPOK	MEAN	SD
PERLAKUAN 1 (P1)	27,79	9,51
PERLAKUAN 2 (P2)	4,77	6,26

Hasil tabel di atas tampak bahwa jumlah koloni kuman meningkat pada kelompok yang hanya diberi *Salmonella typhimurium* dan kelompok yang diberi *Gynura procumbens* (lour ) merr dan *Salmonella Typhimurium* jumlah koloni kuman menurun.

Hasil penelitian mendapatkan bahwa pemberian *Gynura procumbens* (lour ) merr dengan dosis 1,5 mg/kgBB/hr mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok yang hanya diberi *Salmonella typhimurium*. Hasil ini juga memperkuat bahwa kandungan minyak atsiri dan saponin yang terdapat di dalam *Gynura procumbens* (lour ) merr menghambat pertumbuhan dari kuman gram negatif<sup>8-10</sup>

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Dalam penelitian dapat disimpulkan bahwa Pemberian dosis *Gynura procumbens* (lour ) merr 1,5 mg/hari sudah mampu meningkatkan produksi ROI, NO dan mampu menurunkan jumlah koloni kuman secara optimal.

## Saran

Berdasarkan hasil, pembahasan dan semua yang terkait dengan penelitian ini peneliti menyarankan :

1. Diperlukan penelitian dengan metoda yang sama dengan dosis bertingkat.
2. Dosis yang dipakai dalam penelitian ini hanya 1 macam, sehingga tidak bisa menyimpulkan 'dose effect relationship' dari *Gynura procumbens ( Lour ) Merr* dan pada penelitian ini belum seluruhnya mencakup respon imun yang ada, sehingga untuk mendapatkan informasi yang lebih lengkap lagi tentang respon imun setelah pemberian *Gynura procumbens ( Lour ) Merr* perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui parameter-parameter lain seperti sitokin dari subset TH1 dan TH2 untuk mengetahui sejauh mana respon imun berperan

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Prof Edi Dharmana, dr Noorwijayahadi, PhD yang telah membantu sehingga terselesainya penulisan ini dan keluarga tercinta yang selalu mendukung saya

## DAFTAR PUSTAKA

1. Gasem MH. Tyhoid Fever, Clinical and Epidemiological Studies in Indonesia. Thesis of Nijmegen University, Netherland . Diponegoro University Press, Semarang Indonesia. 2001: 6
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology, 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders Co. 2007 : 1-320
3. Keuter M. Experimental studies on pathogenesis of *Salmonella* infection. Thesis. Katholiek Universiteit Nijmegen, 1998
4. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Mikrobiologi edisi 23 Jakarta : EGC, 2008 : 125-7, 157
5. Shen H, Tato CM, Fan X. *Listeria monocytogenes* as a probe to study cell-mediated immunity. *Curr Opin Immunol* 1998;10 : 450 -8
6. Santoso S. Panduan Lengkap Menguasai Statistik dengan SPSS 17. Jakarta; PT Elex Media Komputindo, 2009
7. Kim KI, Shin KS, Jun WJ, Hong BS, Shin DH, Cho HY, et al. Effect of Polysacharides from Rhizomes of *Curcuma zedoaria* on Macrophag Function. *Biosci Biotechnol Bioc, Shhem* 2001 : 2369 - 77
8. Winarto WP, Tim Karyasari. Daun Dewa : Budi Daya dan Pemanfaatan untuk obat. Cetakan I. Jakarta: Penebar Swadaya, 2003: 2-9

- 
- 9 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. Heilongjiang University ( serial on line ). Available from URL : HIPERLINK [http : www. ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed), Accessed Maret 18, 2011
- 10 Sepgana S, Iwang S, Ganthina. Skining fitokimia dan asam fenolat daun dewa ( Gynura procumbens ( lour ) merr ). Simposium penelitian Tumbuhan obat III, Universitas Indonesia. 25 September 1988, Jakarta, Pustaka Herbal