

Digital Repository Universitas Jember
e-Journal

PustakaKesehatan

Volume 5 Nomor 2, Mei 2017



Daya Antibakteri Infusa Kismis (*Vitis vinifera* L.) Konsentrasi 100%, 50%, dan 25% Terhadap *Streptococcus mutans* (*Antibacterial Activity of Raisins Infuse (Vitis vinifera* L.) Concentration 100%, 50%, and 25% Against *Streptococcus mutans*)

Dian Fajariani, Achmad Gunadi, Melok Aris Wahyukundari
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jl. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: gunadi.fkg@unej.ac.id

Abstract

Background: Dental plaque is one factor that causing the occurrence of dental caries and periodontal disease. Bacteria that has role in the process of forming and increasing the accumulation of dental plaque is *Streptococcus mutans*. *S. mutans* digest sucrose and synthesis glukon in order to help other bacterial adhesions to form plaques biofilm. An effective way to control plaque accumulation is needed. One of the ways is using mouth rinse. The mouth rinse in the market could give some side effect in long term. Raisin is a food that made from dried grape result which consists of antimicrobial substance such as flavonoid, tannin and triterpenoid. **Objective:** Determined the large of antibacterial activity and effective concentration of raisins infused that still have antibacterial activity against *S. mutans*. **Methods:** This study was laboratories experimental with post test only control group design research. The method was using well diffusion method. Antibacterial activity was showed by the inhibition zone around the well. Total of research samples were 25 samples which divided into 5 groups that were 25%, 50%, 100% concentration of raisins infused, chlorhexidine 0,2% and sterile aquadest. **Result and Conclusion:** The magnitude of antibacterial activity raisins infused against *S. mutans* was achieved by consentration of 100%, 50%, 25% respectively and the effective concentration of the raisins infused which had antibacterial activity was 100%.

Keywords : Antibacterial, flavonoid, raisins infuse, *S. mutans*, tannin, triterpenoid

Abstrak

Latar Belakang: Plak gigi merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya karies gigi dan penyakit periodontal. Bakteri yang berperan dalam proses pembentukan dan peningkatan akumulasi plak adalah *Streptococcus mutans*. *S. mutans* dapat mencerna sukrosa dan mensintesis glukon sehingga dapat membantu proses perlekatan bakteri lain untuk membentuk biofilm plak. Dibutuhkan cara yang efektif untuk mengontrol plak. Salah satunya dengan penggunaan obat kumur. Obat kumur di pasaran dapat menimbulkan efek samping yang merugikan dalam jangka panjang. kismis merupakan makanan yang berasal dari hasil pengeringan buah anggur yang diketahui mengandung senyawa antibakteri seperti flavonoid, tanin dan triterpenoid. **Tujuan:** Mengetahui besarnya daya antibakteri dan konsentrasi efektif infusa kismis dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. **Metode Penelitian:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Metode yang digunakan adalah difusi sumuran. Daya antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar lubang sumuran. Sampel penelitian berjumlah 25 sampel yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu infusa kismis 25%, 50%, 100%, *chlorhexidine* 0,2% dan aquades steril. **Hasil dan Kesimpulan:** Besar daya antibakteri infusa kismis terhadap pertumbuhan *S. mutans* yaitu berturut-turut diperoleh kelompok konsentrasi 100%, 50% kemudian 25% serta konsentrasi infusa kismis yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* adalah 100%.

Kata Kunci : Antibakteri, flavonoid, infusa kismis, *S. mutans*, tanin, triterpenoid

Pendahuluan

Plak gigi merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya karies gigi dan penyakit periodontal [1]. Bakteri yang berperan dalam proses pembentukan dan peningkatan akumulasi plak salah satunya adalah *Streptococcus mutans*. *S. mutans* dapat menghasilkan enzim glukosiltransferase ekstraseluler yang dapat digunakan untuk mencerna sukrosa dan mensintesis glukon, sehingga dapat membantu perlekatan bakteri lain untuk membentuk biofilm plak [1,2].

Oleh karena itu, pengontrolan plak diperlukan sebagai salah satu upaya untuk memelihara kesehatan gigi dan mulut [1]. Kontrol plak dapat dilakukan dengan cara pembersihan plak secara mekanis dan kimiawi.

Kontrol plak secara kimiawi yaitu dengan berkumur menggunakan obat kumur. Obat kumur yang dijual dipasaran, salah satunya adalah *chlorhexidine*[3]. *Chlorhexidine* 0,2% digunakan sebagai agen preventif dan terapi dalam mencegah gingivitis dan

menghambat pembentukan plak [4]. Namun penggunaan *chlorhexidine* dapat memberikan beberapa efek yang bersifat reversibel, seperti gangguan pengecap, perubahan warna coklat pada gigi, lidah, dan margin restorasi [5]. Alternatif penggunaan bahan alam sebagai pengganti obat kumur berbahan sintetik masih menjadi pilihan masyarakat karena harganya murah dan memiliki efek samping yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan bahan sintetik [6].

Kismis adalah makanan ringan yang berasal dari hasil pengeringan buah anggur (*Vitis vinifera* L.). Kandungan gula kismis terdiri dari glukosa dan fruktosa tetapi tidak mengandung sukrosa [7]. Kismis mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yaitu senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid [8]. Mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi [9]. Mekanisme antibakteri tanin dapat dilihat dari aksinya pada membran [10].

Mekanisme antibakteri triterpenoid yaitu dengan menghambat proses glukosiltransferase *S. mutans* [11].

Penelitian mengenai kismis diantaranya ekstrak kismis memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi sebesar 15% [12]. Senyawa hasil fraksi n-heksana ekstrak metanol kismis Thompson juga terbukti dapat menghambat bakteri *S. mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* dengan rentan konsentrasi 3,9-500 µg/mL [7]. Peneliti melakukan penelitian pendahuluan yaitu menguji antibakteri infusa kismis terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Hasil dari penelitian pendahuluan data yang diperoleh pada masing-masing konsentrasi tidak terpaut jauh dan konsentrasi terendah dari infusa kismis yang masih memiliki daya antibakteri adalah konsentrasi 20%. Berdasarkan penelitian terdahulu maka dilakukan penelitian berikut dengan tujuan untuk mengetahui besarnya daya antibakteri infusa kismis konsentrasi 100%, 50%, dan 25% serta konsentrasi infusa kismis yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Juni 2015, dilakukan di Laboratorium *Bioscience* RSGM Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Jumlah sampel dalam penelitian adalah 25 sampel. Sampel terbagi dalam 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok *chlorhexidine* 0,2% (K+), kelompok aquades steril (K-), kelompok infusa kismis konsentrasi 100% (K100), kelompok infusa kismis konsentrasi 50% (K50), dan kelompok infusa kismis konsentrasi 25% (K25)

Kismis yang digunakan adalah *Sun-Maid* California kismis. Prose pembuatan infusa kismis berdasarkan pedoman BPOM RI yaitu 50 gram kismis yang telah dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam botol laboratorium berisi 50 ml aquades steril, kemudian dimasukkan ke dalam *water bath*. Saat suhu *water bath* mencapai 90°C pertahankan infusa selama 15 menit. Setelah 15 menit aduk hasil infusa kismis, kemudian saring hasil infusa dalam keadaan panas menggunakan corong kaca yang diberi kertas saring [13]. Hasil akhir didapatkan infusa kismis konsentrasi 100% sebanyak 25 ml dengan konsistensi cair dan berwarna coklat pekat. Infusa kismis 100% diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi 50%, dan 25%. Seluruh hasil pengenceran dihomogenkan menggunakan *thermolyne*. Pembuatan media BHI-B yaitu dengan mencampur 3,7 gram BHI-B dengan 100 ml aquades steril, dipanaskan diatas kompor, dan diaduk hingga homogen dan mendidih [14]. Pembuatan suspensi *S. mutans* dengan cara mencampurkan 2 ml larutan BHI-B dan 1 ose *S. mutans* ke dalam tabung reaksi, ditutup kapas, dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam [15]. Setelah 24 jam suspensi dihomogenkan dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer.

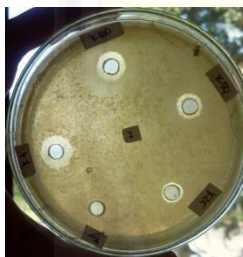
Kekeruhannya disesuaikan dengan larutan standar *Mc Farland* 0,5 (3×10^6 CFU/ml) dan panjang gelombang diatur menjadi 560 nm [16].

Tahap selanjutnya dilakukan pembuatan media BHI-A dan inokulum *S. mutans*. Pembuatan media BHI-A dengan cara mencampurkan 6,5 gram BHI-A dan 125 ml aquades steril dididihkan hingga homogen dan sterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit [17]. Saat suhu media antara 40-50°C, media dituangkan ke *petridish* sebanyak 25 ml dengan ketebalan 6 mm [18], lalu diinokulasikan 0,5 ml suspensi *S. mutans* dan diratakan menggunakan gaskrin. Media dibiarkan memadat hingga dapat dibuat sumuran menggunakan *sterile cork borer* diameter 5 mm sebanyak 5 sumuran pada masing-masing *petridish*. Kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dimasukkan sebanyak 10 µl pada tiap lubang sumuran sesuai dengan label keterangan pada *petridish* [19]. *Petridish* dimasukkan kedalam desikator dan diinkubasi pada suhu 37°C

selama 18-24 jam. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan pada daerah bening disekitar lubang sumuran oleh 3 orang pengamat kemudian diambil rata-rata. Jika terdapat zona yang berbentuk lonjong, maka pengukurannya dengan menjumlahkan diameter tepanjang dan diameter terpendek lalu dibagi dua. Setelah diperoleh diameter zona hambat, kemudian dikurangi diameter sumuran sebesar 5 mm [20]. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene* lalu dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Hasil Penelitian

Daya antibakteri infusa kismis terhadap *S. mutans* ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada media. Zona hambat adalah daerah bening yang terdapat di sekitar lubang sumuran yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Zona hambat infusa kismis

Besar rata-rata zona hambat berdasarkan data hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat K100, K50, K25, K+, dan K- terhadap *S. mutans*

Kelompok	n	Mean ± SD
K100	5	6,0647* ± 0,4790
K50	5	3,6600* ± 0,7604
K25	5	2,0147* ± 0,4104
K+5	6,7120*	± 0,4634
K-5	0,0000	

N : jumlah sampel

Mean : nilai rata-rata diameter zona hambat

SD : standar deviasi (simpang baku)

diameter zona hambat

E100 : infusa kismis konsentrasi 100%

E50 : infusa kismis konsentrasi 50%

E25 : infusa kismis konsentrasi 25% K+

: kontrol positif (*chlorhexidine*)

K- : kontrol negatif (aquades steril)

* : perbedaan nilai yang signifikan

Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui besarnya daya antibakteri infusa kismis dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *S. mutans* menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*). Daya antibakteri dari infusa kismis terhadap pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar lubang sumuran pada media. Semakin besar diameter zona hambat, berarti semakin besar daya antibakterinya.

Hasil penelitian menunjukkan semua konsentrasi infusa kismis mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Besar diameter zona hambat berturut-turut yaitu kelompok *chlorhexidine* 0,2% (K+) sebesar 6,7120 mm, kelompok K100 sebesar 6,0647 mm, kelompok K50 sebesar 3,6600 mm, kelompok K25 sebesar 2,0147 mm, dan kelompok K- tidak memiliki zona hambat (Tabel 1). *Chlorhexidine* 0,2% (K+) memiliki diameter zona hambat terbesar dan infusa kismis konsentrasi 100%.

Data hasil penelitian diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji *Shapiro-Wilk* pada semua kelompok memiliki nilai signifikansi (α) lebih besar dari 0,05, maka data dinyatakan terdistribusi normal. Data kemudian diuji homogenitasnya dengan uji *Levene*, didapatkan bahwa data tidak homogen dengan nilai signifikansi 0,003 ($\alpha < 0,05$).

Data diuji dengan uji statistik non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* yaitu terdapat perbedaan terhadap masing-masing kelompok dengan nilai signifikansi 0,000 ($\alpha < 0,05$). Uji statistik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* yang bertujuan untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan dengan nilai signifikan. Semua kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai signifikansi (α) kurang dari 0,05. memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan konsentrasi 50% dan 25%. Berdasarkan data hasil penelitian kelompok konsentrasi infusa kismis 100% diasumsikan sebagai konsentrasi yang efektif bila dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2% karena memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan kelompok infusa kismis konsentrasi lainnya.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi infusa kismis, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Aktivitas suatu antibakteri dapat semakin besar dalam menghambat bakteri jika konsentrasinya tinggi, hal ini disebabkan meningkatnya konsentrasi zat dapat meningkatkan kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri sehingga kemampuan dalam membunuh bakteri juga semakin besar [21].

Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan bermakna pada semua kelompok data. Perbedaan terlihat pada rata-rata diameter zona hambat antara berbagai konsentrasi infusa kismis bila dibandingkan dengan K⁺ memiliki beda signifikan. Perbedaan signifikan tersebut menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi infusa kismis tidak memiliki kandungan antibakteri yang sebanding dengan kandungan antibakteri dari kelompok K⁺ dalam menghambat *S. mutans*

Chlorhexidine 0,2% berkhasiat sebagai antimikroba berspektrum luas, bersifat bakterisid dan bakteriostatik yang sangat efektif terhadap bakteri gram positif, gram negatif, yeast dan fungi [5]. Pada konsentrasi yang tinggi akan memiliki efek bakterisid, sedangkan pada konsentrasi yang rendah memiliki efek bakteriostatik [22].

Daya antibakteri *chlorhexidine* adalah dengan menghambat enzim glukosiltransferase dan menghambat metabolisme enzim fosfofenolpiruvat fosfotransferase [22]. Aktivitas ini akan menghambat perlekatan bakteri pada permukaan gigi serta merusak membran sitoplasma yang menimbulkan presipitasi isi sel, kemudian sel menjadi lisis dan mati [4]. *Chlorhexidine* juga dapat mengikat hidroksiapatit pada permukaan enamel, pelikel, plak bakteri dan ekstraseluler polisakarida plak serta membran mukus. *Chlorhexidine* mengabsorpsi hidroksiapatit sehingga dapat menghambat kolonisasi bakteri [23].

Kismis juga mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yaitu senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid [9]. Selain sebagai agen antibakteri, flavonoid juga memiliki manfaat yaitu sebagai agen antijamur dan antivirus. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis asam nukleat adalah dengan menghambat sintesis *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan *ribonucleic acid* (RNA). DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Mekanisme flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim ATPase dan *phospholipase*. Flavonoid menghambat proses metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Energi dibutuhkan bakteri untuk melakukan proses metabolisme dan biosintesis makromolekul [10].

Komponen antibakteri lainnya adalah tanin. Mekanisme antibakteri tanin yaitu tanin dapat melewati membran sel karena tanin dapat berpresipitasi pada beberapa polisakarida dan protein. Tanin juga dapat menekan jumlah beberapa enzim seperti glukosiltransferase [11]. Mekanisme antibakteri *catechin* sebagai senyawa tanin pada kismis adalah dengan merusak lapisan lipid pada membran sel bakteri. Kerusakan tersebut

menyebabkan kebocoran membran, sehingga fungsi barier menjadi terganggu karena membran merupakan barier selektif keluar masuknya zat aktif ke dalam sel dan tempat biosintesis enzim. Akibat terganggunya fungsi barier adalah keluarnya material yang ada di dalam sel, seperti nukleotida [10]

Senyawa lain pada kismis yang memiliki sifat antibakteri yaitu triterpenoid. Penelitian Rivero *et al.*, menyatakan fraksi n-heksana ekstrak metanol kismis Thompson mengandung senyawa triterpenoid pentasiklik yaitu asam oleanolik, betulin, asam betulunik, oleanolik aldehid, dan β -sitosterol [7]. Secara garis besar mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah dengan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa yang dibutuhkan bakteri akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati [24]. Penelitian Wu menyatakan mekanisme antibakteri asam oleanolik sebagai salah satu derivat triterpenoid dalam menghambat *S. mutans* yaitu dengan menghambat produksi enzim glukosil-transferase [12].

Simpulan dan Saran

Kesimpulan yang didapatkan berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu besar daya antibakteri infusa kismis terhadap pertumbuhan *S. mutans* yaitu berturut-turut kelompok konsentrasi 100%, 50% kemudian 25%. Konsentrasi infusa kismis yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* bila dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2% dalam penelitian ini adalah konsentrasi 100%.

Saran yang dapat diberikan penulis yaitu perlu penelitian lebih lanjut mengenai uji biokompatibilitas dan efektifitas terhadap jaringan rongga mulut sebelum digunakan sebagai bahan alternatif obat kumur. Perlu penelitian lebih lanjut juga mengenai kemampuan antibakteri infusa kismis

menggunakan berbagai konsentrasi lain dengan uji efektifitas dalam menghambat bakteri rongga mulut.

Daftar Pustaka

- [1] Toar, A., Posangi, J., & Wowor, V. Daya Hambat Obat Kumur Cetylpyridinium Chloride dan Obat Kumur Daun Sirih Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *J. Biomed.* 2013. Vol. 5(1): 163-168.
- [2] Forssten, D. S., Bjorklund, M., & Ouwehand, C. A. *Streptococcus mutans*, Caries and Simulation Models. *J. Nutr.* 2010. Vol. 2: 290-298.
- [3] Balakrishnan, M., Simmonds, R. S., & Tagg, J. R. Dental Caries is Preventable Infectious Disease. *Aust. J. Dent.* 2000. Vol. 45: 235-234.
- [4] Newman, M. G., Carranza, F. A., Takei, H. H., & Klokkevold, P. R. *Carranza's Clinical Periodontology*. 11th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc. 2012
- [5] Kidd, Edwina. *Essential of Dental Caries*. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press. 2005.
- [6] Cuellar, C. A & Yunus H. Evaluation of the Yield and the Antimicrobial Activity of the Essential Oils from; Eucalyptus Globulus, Cymbopogon Citratus and Rosmarinus Officinalis in Mbarara District (Uganda). *Rev Columbiana Cienc Anim.* 2009. Vol. 1(2):240-244.
- [7] Rivero, J. F., Zhu, M., Kinghorn, A. D & Wu, C. D. Antimicrobial Constituents of Thomson Seedless Raisins (*Vitis Vinifera*) Against Selected Oral Pathogens. *Phytochem Lett.* 2008. Vol. 1(3):151-154.
- [8] Carughi, A., Lamkin, T., & Parelman, D. *Health Benefits of Sun-Dried Raisins*. Cal-

- ifornia: Health Research Study Center. 2012.
- [9] Cushnie, T. P. T. & Lamb, A. J. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2005. Vol. 26: 343-356.
- [10] Vasconcelos, S., Pereira, H., & Peixoto. Minimum Inhibitory Concentration of Adherence of *Punica granatum* Linn (Pomegranate) Gel Against *S. mutans*, *S. mitis*, and *C. albicans*. *Braz. Dent. J.* 2006. Vol. 17(13):223-227
- [11] Wu, C. D. 2009. Grape Products and Oral Health. *J. Nutr.* 2009. Vol. 139: 1818-1823.
- [12] Bower, C.K., Schilke, K.F., & Daeschel, M.A. Antimicrobial Properties of Raisins in Beef Jerky Preservation. *J. Food Sci.* 2003. Vol. 68: 1484-1489.
- [13] Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. *Acuan Sediaan Herbal*. Vol. 5. Edisi ke-1. Jakarta : Direktorat OAI, Deputi II, Badan POM RI. 2010.
- [14] Neogen. Brain Heart Infusion Broth. [Online] Available at : http://www.-neogen.com/Acumedia/pdf/ProdInfo/7116_PI.pdf. [Accesed 15 Oct 2014]. 2010.
- [15] Rahim, Z. H. A. & Khan, H. B. S. G. Comparative Studies on the Effect of Crude Aqueous (CA) and Solvent (CM) Extract of Clove on the Cariogenic Properties of *Streptococcus mutans*. *J. Oral Sci.* 2006. Vol. 48 (3): 117-123.
- [16] Denyer, S. P., Hodges, N. A., & Foe-man, S. P. *Hugo and Russel's*