



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIMBA
(*Azadirachta indica juss*) TERHADAP LAJU ENDAP DARAH
TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIPAPAR *Candida albicans***

Asal :	Hadiah	Klass
SKRIPSI	10 MAR 2003	615.882 WAR P

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Studi Pendidikan Dokter Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Agung Satria Wardhana
NIM. 031610101086

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2009**

PERSEMBAHAN

Tulisan ini, sebuah karya sebagai akhir dari sesuatu yang panjang, dan suatu awal dari sesuatu yang besar, semoga dapat bermanfaat dan memberikan kemudahan menapaki hidup hari esok. Dengan kerendahan hati, kupersembahkan karya ini kepada:

الله SWT

Atas nyawa, kehidupan, kesempatan dan rahmat yang Engkau percayakan

YANG TERNEBAT, IBUNDA, SUKERNI NURULIS SETYOWATI

Atas cinta kasih, pengorbanan, kesabaran dan motivasi yang tiada banding...

PAPA DI SURGA, AL. ISWANI

ATAS CAHAYA EDEN, YANG MEMBUATKU PANTANG MENYERAH.....

Yang Kucintai, Hertina Iswandari, S.TI, Irena Setya Wardhana, S. TP., dan

Asri Puspita Wardhani

Atas kasih sayang, keceriaan, dan kebersamaan. Tanpa kalian aku bukan apa-apa.

Yang Terindah, ANNISA KURNIASARI S. K.G.

Atas cinta... dan dukungan sampai akhir.

Agama, nusa, bangsa dan Almamater yang kuberibahkan.

MOTTO

**"Karena Sesungguhnya Sesudah Kesulitan Itu Ada
Kemudahan"**

QS. ALAM NASYRAH – 5

**"Always.. the Darkest Moment is just a Moment Before a
White Light Dawn Raise and Fill it up Bright Light"**

- A. S. WARDHANA -

"THINK BIG, IF YOU WANNA BIG"

- BMW -

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Agung Satria Wardhana

NIM : 031610101086

Menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica Juss*) Terhadap Laju Endap Darah Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar *Candida Albicans*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab penuh atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 10 Februari 2009

Yang Menyatakan



Agung Satria Wardhana

NIM: 031610101086

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MIMBA (*Azadirachta indica juss*) TERHADAP LAJU ENDAP DARAH
TIKUS WISTAR JANTAN YANG
DIPAPAR *Candida albicans***

Oleh :

AGUNG SATRIA WARDHANA

NIM. 031610101086

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Erna Sulistyani, M. Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Budi Yuwono, M. Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica Juss*) Terhadap Laju Endap Darah Tikus Wistar Jantan yang Dipapar *Candida Albicans* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

Hari / Tanggal : Selasa, 10 Februari 2009

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua

drg. Erna Sulistyani, M. Kes.
NIP. 132 148 478

Sekretaris

drg. Pudji Astuti, M. Kes.
NIP. 132 148 482

Anggota


drg. Budi Yuwono, M. Kes.
NIP. 132 232 800

Mengesahkan,

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember




drg. H. Herniyati, M. Kes.
NIP. 131 479 783

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica Juss*) Terhadap Laju Endap Darah Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar *Candida Albicans*; Agung Satria Wardhana, 031610101086; 2009; 65 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Di bidang kedokteran gigi, penyakit infeksi yang sering dijumpai adalah kandidiasis rongga mulut. Penyakit ini disebabkan oleh adanya jamur *Candida Albicans*, yang sebenarnya merupakan flora normal dalam rongga mulut, namun dapat menjadi patogen bila daya tahan tubuh menurun. Salah satu tanaman obat yang dipercaya dapat meningkatkan imunitas adalah tanaman Mimba. Hal inilah yang melatarbelakangi peneliti untuk melakukan penelitian terhadap daun Mimba. Efektivitas mimba dapat dilihat berdasarkan nilai Laju Endap Darah (LED). Bila mimba efektif terhadap infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans*, maka peningkatan nilai LED karena infeksi dapat diturunkan. LED dipilih karena merupakan indikator non-spesifik yang dapat digunakan untuk mendiagnosis beberapa penyakit dengan spektrum yang luas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya penurunan nilai laju endap darah pada tikus wistar jantan yang dipapar dengan *Candida Albicans* yang kemudian diberi ekstrak daun mimba.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *The Post Test Only Control Group Design* yang dilaksanakan pada bulan Juni 2008 sampai dengan Juli 2008 di Laboratorium Fisiologi dan Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sampel yang digunakan adalah tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok; kelompok I, yaitu kelompok tikus yang tidak diberi perlakuan; kelompok II, yaitu tikus yang

dipapar dengan *Candida albicans*; dan kelompok III, yaitu tikus yang diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak daun mimba kemudian tikus diberi paparan dengan *Candida albicans*. Pada hari ke-22, tikus dikorbankan dan diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan nilai LED.

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan uji analisis varians satu arah (*oneway-ANOVA*) dengan derajat kemaknaan 95% ($P < 0,05$), setelah itu dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference Test*). Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa nilai LED yang tertinggi terdapat pada kelompok II dan terendah pada kelompok I. Hasil pada kelompok III, didapatkan nilai LED yang lebih rendah daripada kelompok II, namun masih lebih tinggi daripada nilai LED pada kelompok I. Hal ini dimungkinkan karena efek imunomodulator mimba secara tidak langsung membantu menurunkan nilai LED pada kelompok tersebut. Kandungan asam *Gallic*, *epicatechin* dan *catechin*, serta NB-II peptidoglikan diperkirakan memiliki potensi sebagai imunomodulator yang akan mengaktifkan mekanisme pertahanan tubuh dan meningkatkan respons perlawanan sistem tubuh terhadap antigen. Aktivitas tersebut akan memodulasi PMN, makrofag dan limfosit sehingga mempengaruhi aktivitas fagositosis.

Dari pembahasan diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun mimba dapat menurunkan nilai laju endap darah.

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan karunia dan rahmat yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica juss*) Terhadap Laju Endap Darah Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar *Candida albicans*” dapat terselesaikan dengan baik. Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan akademis dalam rangka menyelesaikan program kesarjanaan (strata satu) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Dalam proses penyelesaian penulisan ini, penulis mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. Erna Sulistyani, M. Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Budi Yuwono M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota, atas segala kesabaran dan perhatian, yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan pengarahan dan bimbingan sejak awal hingga selesainya penulisan skripsi ini.
3. drg. Pudji Astuti, M. Kes., selaku sekretaris, yang telah meluangkan waktu dan pikirannya untuk penyelesaian karya ini.
4. drg. Yenny Yustisia, M.Kes, selaku Dosen Wali Pertama dan drg. Hengky B. Ardhiyanto, selaku Dosen Wali saat ini atas semua bimbingannya.
5. Seluruh Dosen beserta Staf Karyawan di lingkungan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember serta Perpustakaan FKG dan Perpustakaan Pusat.
6. Ibunda tercinta, Papa yang damai di surga, beserta keluargaku yang membanggakan, yang tak pernah lelah memberikan dorongan moral, material, dan kasih sayang.
7. *The inspirational one*, Annisa Kurniasari. Terima kasih atas segalanya. Kau takkan terganti.

8. Keluarga Bpk. Hendro Winarno, terima kasih atas motivasi yang selalu ada serta jalinan kekeluargaan yang membuatku tak pernah jengah hidup di Jember.
9. drg. Ari Cahyono. Atas bimbingan dan persahabatan selama ini.
10. Rekan penelitianku, Adithiya Agung Sasmito dan Indah Kartika, terima kasih atas kerjasamanya.
11. Sahabatku; Amang, Harry, Sahat, Tived Devianto, Budiono (akhirnya!!!), Yogi, Wahyudi dan mas Ucil. Terima kasih atas hitam, putih dan warna-warni yang telah tertoreh di hidup ini.
12. Senat Mahasiswa dan BPM FKG UNEJ, yang telah menemukan dan membentuk sisi lain hidupku yang selama ini tak pernah aku tahu bahwa itu ada.
13. Keluarga besar angkatan 2003, kita semua yang terhebat.
14. Punggawa DFC: Rofi, Amar, Irfan, Firman, Reza, Ardhi, Ranggi, Krisna, Yoppie, Arian, Angga, Yudha, Suher, Kojal, Armando, Henry dan Alfa. Majulah persepakbolaan FKG Unej!!!
15. Teman-temanku di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, seseorang, maupun banyak orang disana yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas kebersamaan dan bantuannya.

Semoga Allah SWT memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Penulis sadar akan keterbatasan dan kekurangan penulisan skripsi ini, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan bantuan pengetahuan bagi yang membacanya.

Jember, 10 Februari 2009

Penulis

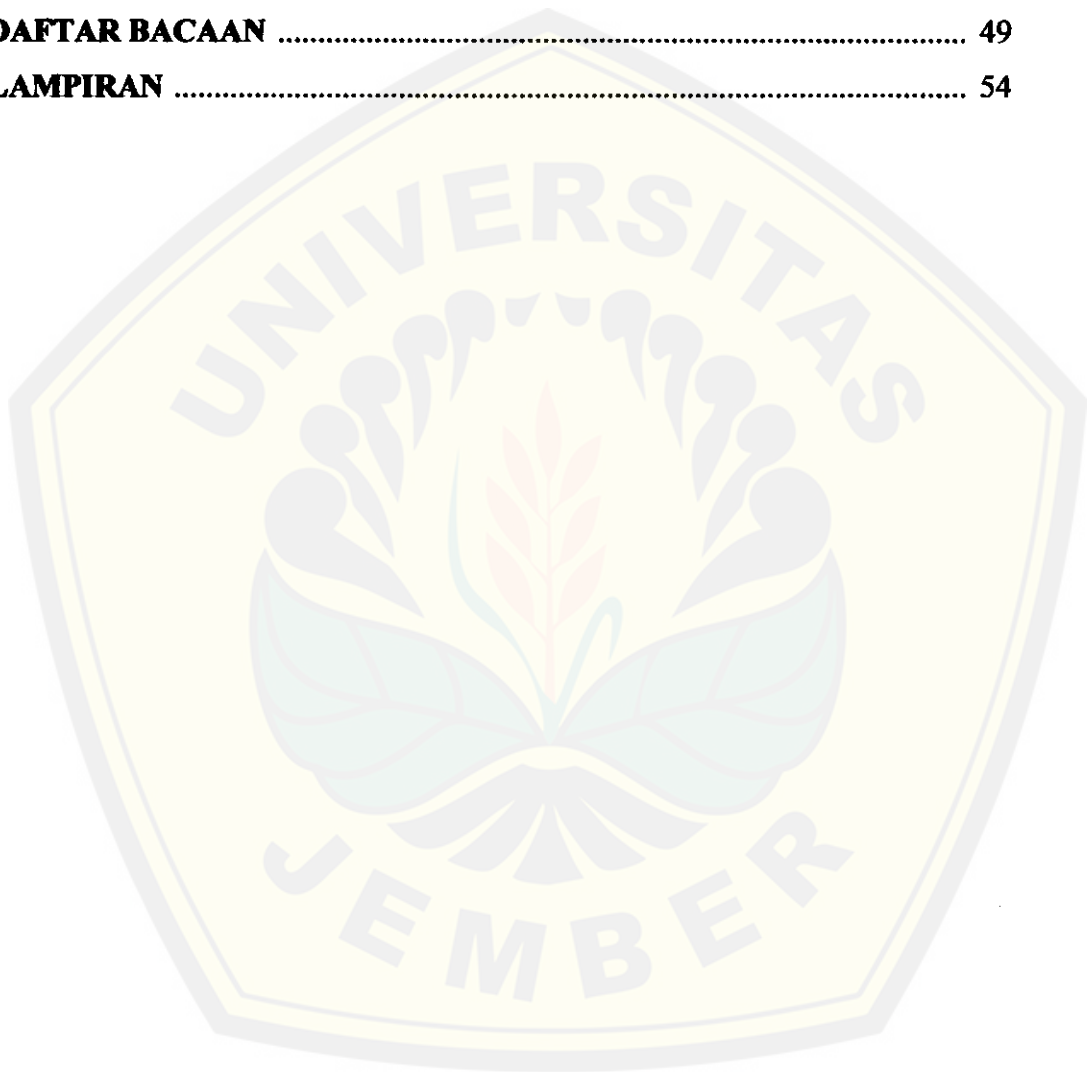
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Mimba	8
2.1.1 Morfologi	8
2.1.2 Tata Nama (Taksonomi).....	6
2.1.3 Sifat dan kandungan senyawa aktif mimba.....	7
2.1.4 Manfaat Tanaman Mimba	8
2.1.5 Efek Imunologis Mimba.....	10

2.2. <i>Candida albicans</i>	10
2.2.1 Pengertian.....	10
2.2.2 Morfologi dan Identifikasi	11
2.2.3 Klasifikasi <i>C. albicans</i>	11
2.2.4 Beberapa ciri <i>C. albicans</i>	11
2.2.5 Patogenesis <i>C. albicans</i>	15
2.3. Laju Endap Darah	16
2.3.1 Definisi Laju Endap Darah.....	16
2.3.2 Sejarah dan Perkembangan LED.....	17
2.3.3 Nilai LED	18
2.3.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi LED.....	19
2.3.5 Peran LED dalam penegakan diagnosa.....	23
2.4. Hubungan Daun Mimba dan Respon Imun terhadap nilai Laju Endap Darah	24
2.5. Hubungan <i>Candida albicans</i> terhadap nilai Laju Endap Darah	25
2.6. Hubungan Daun Mimba terhadap nilai Laju Endap Darah dan <i>Candida albican</i>	26
2.7. Tikus Wistar Jantan	27
2.8. Hipotesis	28
BAB III. METODE PENELITIAN	29
3.1 Jenis Penelitian, Tempat dan Waktu penelitian	29
3.1.1 Jenis Penelitian	29
3.1.2 Tempat Penelitian	29
3.1.3 Waktu Penelitian	29
3.2. Variabel Penelitian	29
3.2.1 Variabel Bebas	29
3.2.2 Variabel Terikat.....	29

3.2.3	Variabel Terkendali.....	30
3.3	Definisi Operasional Penelitian	30
3.3.1	Ekstrak Daun Mimba	30
3.3.2	Nilai Laju Endap Darah	30
3.3.3	<i>Candida albicans</i>	31
3.4	Populasi dan Sampel Penelitian.....	31
3.5.1	Populasi	31
3.5.2	Sampel	31
3.4.2.1	Kriteria Sampel	31
3.4.2.2	Besar Sampel	31
3.5	Alat dan Bahan Penelitian	32
3.5.1	Alat-alat Penelitian.....	32
3.5.2	Bahan Penelitian.....	33
3.6	Konversi Dosis Ekstrak Daun Mimba.....	33
3.7	Prosedur Penelitian	34
3.7.1	Tahap Persiapan Pembuat Ekstrak Daun Mimba.....	34
3.7.2	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mimba (<i>Azadirachta Indica Juss</i>) 75 %	34
3.7.3	Tahap Persiapan Hewan Coba	35
3.7.4	Tahap Persiapan <i>Candida albicans</i>	35
3.7.5	Tahap Perlakuan pada Hewan Coba.....	36
3.7.6	Tahap Pengambilan Darah	36
3.7.7	Tahap Pengukuran LED menurut Westergren	36
3.8	Analisa Data	37
3.9	Skema penelitian	38
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Hasil Penelitian	39
4.2	Analisa Data	41
4.3	Pembahasan	43

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR BACAAN	49
LAMPIRAN	54



DAFTAR TABEL

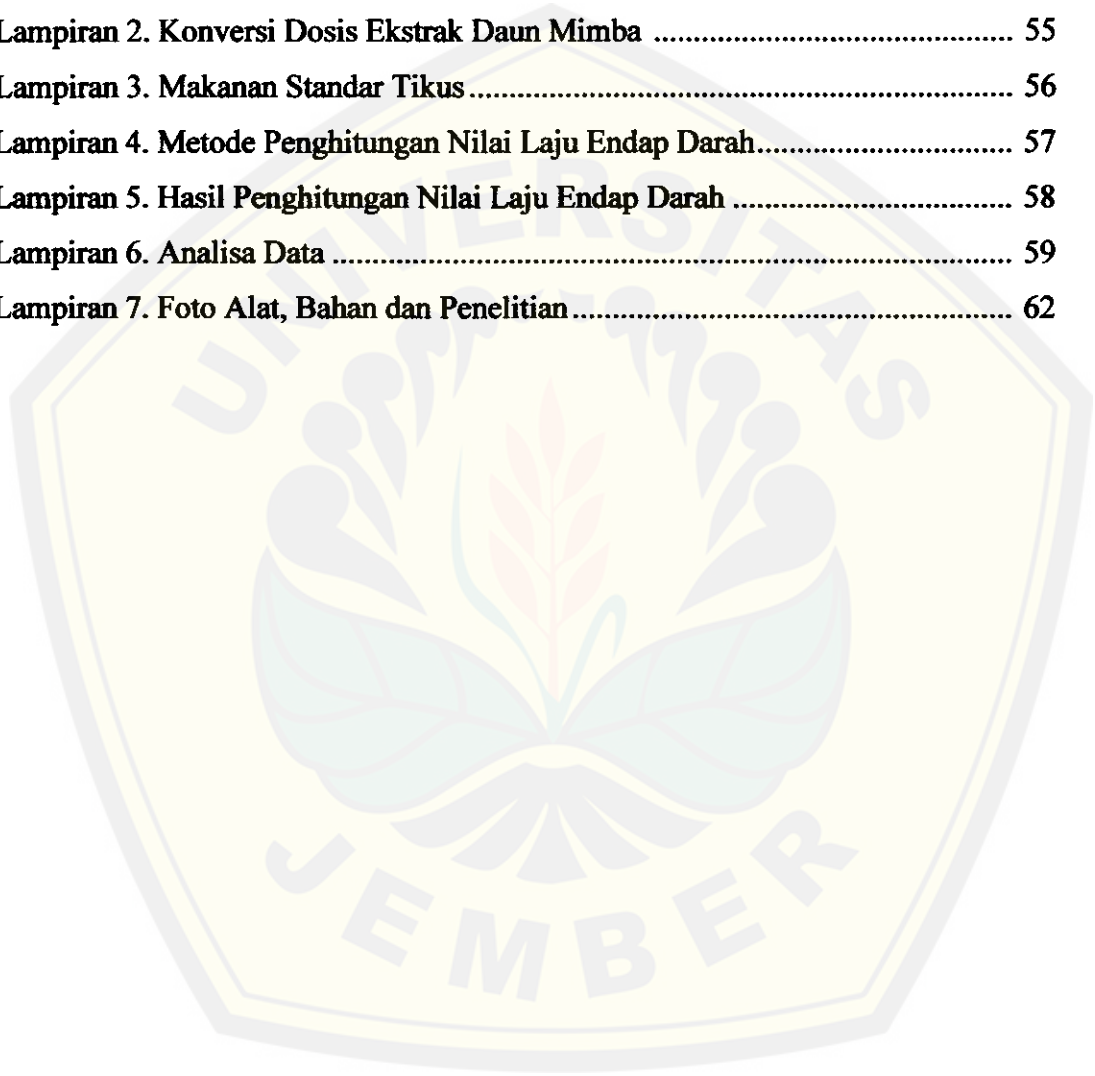
	Halaman
Tabel 2.1 Faktor-faktor yang Mempengaruhi LED	21
Tabel 2.2 Perbandingan uji LED, <i>C-reactive Protein</i> dan Viskositas Plasma.....	24
Tabel 4.1 Hasil pemeriksaan LED pada tikus wistar.....	40
Tabel 4.2 Hasil uji normalitas pada pemeriksaan LED pada kelompok I, II dan III	41
Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas pada kelompok kontrol dan perlakuan	42
Tabel 4.4 Hasil uji parametrik <i>Anova One Way</i> pada pemeriksaan LED.....	42
Tabel 4.5 Hasil uji LSD pada pemeriksaan LED	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Pohon, Bunga dan Biji Mimba	5
2.2 Daun Mimba.....	6
2.3 Hifa dan Spora	13
2.4 Sampel sedimentasi darah pada saat pengukuran LED.....	17
2.5 Tabung Westergren Manual dan Digital	18
2.6 Pendekatan praktis terhadap pemeriksaan LED yang meningkat	22
3.1 Skema pembuatan ekstrak daun mimba	35
4.1 Histogram rata-rata nilai LED pada kelompok kontrol dan perlakuan	40
4.2 Skema pengaruh mimba terhadap nilai LED	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Penghitungan Besar Sampel	54
Lampiran 2. Konversi Dosis Ekstrak Daun Mimba	55
Lampiran 3. Makanan Standar Tikus	56
Lampiran 4. Metode Penghitungan Nilai Laju Endap Darah.....	57
Lampiran 5. Hasil Penghitungan Nilai Laju Endap Darah	58
Lampiran 6. Analisa Data	59
Lampiran 7. Foto Alat, Bahan dan Penelitian.....	62





BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Krisis ekonomi yang terjadi pada bangsa Indonesia sejak tahun 1998 tidak dapat dipungkiri telah memberikan efek yang besar bagi kehidupan manusia. Dengan semakin merosotnya kualitas hidup kebanyakan orang, semakin rendah pula derajat kesehatan masyarakat Indonesia pada umumnya. Dalam bidang kesehatan, masalah yang sering terjadi sebagai akibat dari kondisi kesehatan yang tidak prima adalah meningkatnya penyakit infeksi. Di bidang kedokteran gigi sendiri penyakit infeksi yang sering dijumpai adalah kandidiasis rongga mulut. Penyakit ini disebabkan oleh adanya jamur *Candida Albicans*, yang sebagian besar orang, bahkan hampir seluruh manusia pernah mengalaminya. *Candida Albicans* merupakan suatu mikroorganisme jamur yang ada pada rongga mulut yang memiliki sifat yang khas, yaitu komensal oportunistik, yang berarti mikroorganisme ini dapat menjadi patogen pada keadaan tertentu, yakni apabila sistem pertahanan tubuh sedang turun atau terganggu. (Jawetz *et al.*, 1996 ; Bunetel *et al.*, 1996). Peningkatan kasus penyakit infeksi rongga mulut ini semakin diperparah dengan kenaikan harga obat yang semakin hari semakin tinggi. Hal ini menyebabkan penyakit kandidiasis yang terjadi tidak bisa ditangani dengan baik, atau bahkan dapat berkembang ke arah kelainan praganas, yaitu kandida leukoplakia. Tentu saja hal ini akan memperburuk keadaan dan memerlukan tindakan yang lebih khusus. Pembahasan di atas menimbulkan suatu wacana tentang perlunya mencari alternatif pengobatan untuk kandidiasis yang efektif dengan harga yang lebih terjangkau.

Meningkatnya harga-harga obat di pasaran membuat masyarakat mulai melirik kepada obat-obat alternatif atau kepada obat-obat tradisional. Salah satu tanaman obat yang dipercaya dapat meningkatkan imunitas atau daya tahan tubuh

terhadap berbagai agen atau bakteri yang menginvasi tubuh adalah tanaman Mimba. Tanaman ini banyak ditemukan di Indonesia, bahkan di Jemberpun banyak dijumpai tanaman ini. Mimba (*Azadirachta Indica Juss*) mengandung *azadirachtin*, *milentriol*, *salanin*, *nimbin*, *catechin*, *epicatechin*, *galic acid*, *nimbidin*, *gedunin*, *trisulfida* maupun *tetrasulfida* (Dewanti, 2004). Hampir seluruh bagian tanaman ini dapat dijadikan sebagai obat. Hingga saat ini masyarakat umum sering menggunakan tanaman mimba sebagai bahan untuk mengobati berbagai macam penyakit, seperti: cacangan, kudis, malaria, infeksi jamur, mengatasi tumor dan alergi (Ganguli, 2002; Goel dan Sairam, 2002).

Selain sebagai fungisida, daun mimba juga memiliki aktivitas imunopotensiasi. Sukrasno (2003) mengatakan bahwa ekstrak daun mimba memiliki efektivitas pada berbagai jenis penyakit, baik penyakit infeksi maupun noninfeksi karena memiliki kemampuan meningkatkan daya tahan tubuh. Sukrasno juga menyebutkan bahwa serbuk daun mimba sebanyak 2 g/kg dapat meningkatkan kadar titer antibodi ayam broiler terhadap antigen virus *New Castle (New Castle Disease Virus-NCDV)*. Selain itu, serbuk daun mimba juga dapat meningkatkan reaksi inflamasi 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (DCNB) dalam uji kontak pada kulit. Dari beberapa wacana di atas, dapat ditarik suatu dugaan bahwa tanaman Mimba memiliki kemampuan untuk menstimulasi tubuh melakukan perlawanan terhadap infeksi jamur, baik melalui aktivitas fungisidanya maupun kemampuan imunomodulatornya.

Dari uraian tersebut di atas maka penulis akan melakukan penelitian efektivitas mimba (baik imunomodulator maupun fungisida) terhadap tikus wistar yang dipapar *Candida Albicans*. Efektivitas tersebut dilihat berdasarkan nilai Laju Endap Darah (LED). Bila mimba efektif terhadap infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans*, maka peningkatan nilai LED karena infeksi dapat diturunkan. Peneliti memilih LED karena LED merupakan indikator non-spesifik yang dapat digunakan untuk mendiagnosis beberapa penyakit dengan spektrum yang luas dan

banyak digunakan karena sederhana dan murah (Isbister, 1999). Peningkatan LED juga dapat diasosiasikan dengan adanya suatu penurunan imunitas atau infeksi yang terjadi pada tubuh pejamu tersebut (Brigden, 1999).

Untuk melaksanakan penelitian ini, metode eksperimental laboratoris dipilih karena baik sampel yang berupa tikus wistar, maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan dapat lebih dipercaya (Asnar, 2001). Paparan *Candida albicans* diberikan secara injeksi intrakutan untuk memastikan bahwa *Candida albicans* bersifat patogen. Penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan karena tikus wistar ini mempunyai sistem hormon dan metabolisme tubuh yang mirip dengan manusia, tikus ini juga memiliki daya adaptasi yang tinggi sehingga banyak digunakan untuk penelitian di bidang kesehatan (Baker, 1980).

1.2 Rumusan Masalah

- Berdasarkan latar belakang tersebut menimbulkan suatu permasalahan yaitu apakah terdapat penurunan nilai laju endap darah pada tikus wistar jantan yang dipapar dengan *Candida Albicans* yang kemudian diberi larutan ekstrak daun mimba?

1.3 Tujuan Penelitian

- Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya penurunan nilai laju endap darah pada tikus wistar jantan yang dipapar dengan *Candida Albicans* yang kemudian diberi ekstrak daun mimba.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat:

- a. Memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian ekstrak daun mimba terhadap nilai laju endap darah.

- b. Digunakan sebagai pertimbangan bagi klinisi untuk menggunakan tanaman mimba sebagai obat alternatif penanggulangan infeksi jamur, terutama jamur pada rongga mulut.
- c. Bermanfaat untuk penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mimba

Mimba (*Azadirachta indica Juss*) termasuk dalam famili *Meliaceae*. Tanaman ini dapat dijumpai di seluruh penjuru tanah air. Tanaman ini berbentuk pohon dengan ketinggian sekitar 20 meter dan dapat tumbuh di daerah tropis maupun subtropis khususnya di tanah masam.

Tanaman ini telah dimanfaatkan sebagai obat berbagai macam penyakit, antara lain sebagai obat cacing, obat kudis, anti alergi, obat malaria, pembangkit selera makan, obat lambung, anti jamur dan anti kanker (Grainge and Salem, 1987 ; Badam *et al.*, 1999 ; Arivazhagan, 2000).

2.1.1 Morfologi

1. Kayu

Berat 1 m³ kayu adalah 925 kg. Observasi yang dilakukan terhadap tiga pohon mimba yang berumur 15 tahun di Naroyangoan, Maharashtra State menunjukkan bahwa setiap pohon mimba memproduksi sekitar 400 kg kayu yang bisa dimanfaatkan sebagai bangunan rumah, dan lain-lain.



Gambar 2.1 Pohon, bunga dan biji mimba
Sumber: APFORGEN, 2008

2. Daun

Daun mimba merupakan daun majemuk, panjangnya 22 sampai 32 cm dengan jumlah anak daun 7 sampai 17 helai. Pohon dengan tinggi 7,5 meter memberikan sekitar 360 kg daun. Daun-daun tua gugur pada bulan Februari dan Maret.



Gambar 2.2 Daun Mimba
Sumber: Henriette, 1991

3. Bunga

Bunga mimba muncul pada bulan Januari sampai Mei bersamaan dengan munculnya daun baru. Musim bunga bervariasi dari satu daerah dengan daerah lainnya, umumnya lebih cepat di daerah barat.

4. Buah

Buahnya licin, berbentuk tipis lonjong, panjangnya 1,25 sampai 1,8 cm dan lebarnya 1 cm, berwarna hijau ketika muda dan kuning kehijauan ketika matang. Di Indonesia umumnya buah ini matang pada bulang Maret – Agustus.

2.1.2 Tata Nama (Taksonomi)

Tanaman mimba tersebar di seluruh penjuru Indonesia, hal ini dapat dilihat dari beragamnya nama-nama daerah tumbuhan ini. Misalnya: Imba, Mimbo, Mimba (Jawa); Intaran (Bali); Meupleuh (Madura); Mambu (Melayu). Dalam bahasa ilmiah, mimba memiliki nama botani *Azadrachta Indica Juss*, dan dapat dikelompokkan secara taksonomi sebagai berikut:

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Rutales</i>
Suku	: <i>Meliaceae</i>
Marga	: <i>Azadirachta</i>
Jenis	: <i>Azadirachta indica juss</i>

2.1.3 Sifat dan kandungan senyawa aktif mimba

Senyawa yang terkandung adalah *azadirachtin*, *salanine*, *meliantrirole*, *nimbin*, *nimbolide*, *gedunine*, *mahmodine*, *gallic acid*, *catechin*, *epicatechin*, *margolone*, *margolonone*, *isomargolonone*, *cyclictrisulphide*, *cyclictetrasulphide* dan *polisakarida* (Kardiman, 1999; Biswas *et al.*, 2002).

a. *Azadirachtin*

Kandungan *azadirachtin* paling banyak terdapat dalam biji mimba. Bahan aktif ini memiliki aktivitas mempengaruhi serangga untuk menolak makan dan mengganggu pertumbuhan dan reproduksi. Secara struktural, senyawa ini menyerupai hormon *ecidisones* pada serangga, yang berfungsi mengontrol proses metamorfosis serangga (Fatima *et al.*, 2005).

b. *Meliantrirole*

Meliantrirole pada konsentrasi yang sangat rendah memiliki efek bagi serangga untuk menolak makan, sehingga serangga akan mati kelaparan (Ganguli, 2002).

c. *Salanin*

Senyawa ini juga memiliki efek menolak makan bagi serangga, namun senyawa ini tidak mempengaruhi proses ganti kulit pada serangga (Sukrasno, 2003).

d. *Nimbin*

Menurut penelitian, senyawa ini memiliki efek sebagai antivirus, sehingga memiliki potensi sebagai pengendali invasi virus (Biswas *et al.*, 2002).

e. *Nimbolide*

Kandungan *nimbolide* paling banyak ditemukan dalam minyak dari biji mimba. Senyawa ini dapat berperan sebagai antibakteri, terutama untuk *Streptococcus aureus* dan *Streptococcus coagulase*.

f. *Gedunine*

Senyawa *gedunine* yang diisolasi dari tanaman mimba memiliki daya kerja sebagai antijamur dan antimalaria.

g. *Mahmodine*

Mahmodine dapat diisolasi dari tanaman mimba dan berfungsi sebagai antibakteri patogen pada manusia.

h. *Margolone, magolonone, isomargolone*

Senyawa-senyawa ini dapat diisolasi dari tanaman mimba dan memiliki daya antibakteri terhadap spesies *Klebsiella* dan *Staphylococcus serratia*.

i. *Cyclotrisulphide* dan *Cyclotetrasulphide*

Senyawa ini didapat dari isolasi dari distilasi daun mimba segar dan matang. Senyawa ini dapat berperan sebagai antijamur.

j. Polisakarida

Dari kulit batang mimba dapat diekstraksi polisakarida GIa dan GIb yang berfungsi sebagai antiinflamasi kuat dan antitumor. Hal ini telah dibuktikan pada mencit yang diberi konsumsi mimba 50 mg/kg selama 4 hari dan pada 24 jam setelahnya diinokulasi subkutan dengan sel sarcoma-180. Dua polisakarida GIIa dan GIIIa juga menunjukkan efek antiinflamasi. Dua polimer yang diisolasi dari kulit batang berfungsi sebagai antikomplemen. Disamping itu isolasi dari biji mimba dapat berfungsi sebagai antiulser lambung.

2.1.4 Manfaat Tanaman Mimba

Seperti halnya tanaman obat yang ada di Indonesia, tanaman mimba memiliki banyak sekali manfaat bagi dunia kesehatan, namun penggunaan tanaman ini kurang diperhatikan oleh masyarakat. Hal ini disebabkan masih sedikitnya hasil penelitian

manfaat daun mimba yang dipublikasikan kepada masyarakat. Penggunaan tanaman mimba sebagai tanaman obat hanya sebatas pengalaman dan berkembang secara menurun dari satu generasi ke generasi yang lain.

Di India, daun mimba sudah termasuk dalam daftar obat-obatan alami yang telah dibukukan secara resmi. Bahkan mimba sudah digunakan sebagai pencegah kehamilan karena terbukti dapat mematikan sperma. Demikian pula dengan artikel-artikel ilmiah yang ditulis oleh peneliti India bahwa daun mimba memiliki aktivitas farmakologi sebagai antijamur, antibakteri, antivirus, obat cacing, antialergi dan anti kanker baik *in vitro* maupun *in vivo* (Arivazaghan *et al.*, 2000; Fatima *et al.*, 2005). Selain itu, dari informasi melalui masyarakat umum, meminum rebusan daun mimba juga dipercaya dapat menjauhkan nyamuk dari tubuh peminumnya.

Mimba (*Azadirachta indica juss*) yang memiliki kandungan senyawa *azadirachtin, salanine, meliantrirole, nimbin, nimbolide, gedunine, mahmodine, gallic acid, catechin, epicatechin, margolone, margolonone, isomargolonone, cyclictrisulphide, cyclictetrasulphide* dan *polisakarida* bermanfaat sebagai antijamur, antimalaria, antibakteri, antipiretik dan imunomodulator. Sampai saat ini bagian tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah daun dan bijinya (Mirin, 1997; Kardiman, 1999; Biswas *et al.*, 2002). Masyarakat juga memanfaatkan khasiat mimba dengan cara meminum rebusan atau perasan daun mimba untuk mengobati berbagai macam penyakit, seperti: cacingan, kudis, malaria, infeksi jamur dan mengatasi alergi (Ganguli, 2002; Goel dan Sairam, 2002). Selain itu masyarakat India memanfaatkan daun dan biji mimba sebagai obat nyamuk dengan cara menumbuk dan mengoleskannya pada tubuh. Serabut mimba juga dimanfaatkan untuk membersihkan dan memutihkan gigi. Di bidang pertanian, mimba dapat digunakan sebagai insektisida, antipatogen dan fungisida alami yang terbukti aman bagi manusia dan hewan (Rahayu, 1999; Dang *et al.*, 2003; Sukrasno, 2003). Sebagai antijamur, daun mimba mengandung *nimbidin, cyclictrisulphide* dan *cyclictetrasulphide*. Hal ini dibuktikan melalui penelitian daun mimba sebagai antijamur

Candida albicans di vagina dengan cara menghitung koloni jamur sebelum dan sesudah mengkonsumsi daun mimba (Casey, 1994; Talwar *et al.*, 1997).

2.1.5 Efek Immunologis mimba

Efek imunologis mimba sudah dapat diketahui dari beberapa penelitian yang telah dilakukan. Mimba dapat memodulasi PMN, Limfosit dan makrofag sehingga mempengaruhi aktivitas fagositosis. Dari hasil penelitian tersebut diketahui bahwa mimba dapat memodulasi respon imunitas alami, seluler dan humoral (Upadhyay *et al.*, 1992; Sairam *et al.*, 1997; Sastrodiharjo, 1998). Beberapa penelitian yang membuktikan efek imunomodulator mimba antara lain oleh Ray *et al.*, (1996) menyebutkan mimba dapat memodulasi respon imun seluler dan humoral pada mencit yang diimunisasi dengan ovalbumin. Modulasi respon imun humoral tersebut meliputi peningkatan level Ig G, Ig M, titer antibodi anti-ovalbumin.

2.2 *Candida Albicans*

2.2.1 Pengertian

Spesies *C. albicans* merupakan spesies rongga mulut yang komensal dan dapat berubah menjadi patogen bila daya tahan tubuh menurun (Putra, 2001:175). *C. albicans* adalah suatu ragi lonjong, bertunas yang menghasilkan *pseudomiselium* dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat. Ragi ini adalah anggota flora normal selaput mukosa saluran pernapasan, dan genitalia wanita. Di tempat-tempat ini, ragi dapat menjadi dominan dan menyebabkan keadaan patologik. *C. albicans* lebih sering menimbulkan penyakit dibandingkan spesies *Candida* lain dalam menyebabkan penyakit meliputi *Candida Parapsilosis*, *Candida Tropicalis*, dan *Torulopsis Glabrata* (Jawetz dkk, 1996: 627-628). *C. albicans* adalah mikroorganisme komensal yang didapatkan 20 – 60 % dalam rongga mulut orang sehat. *C. albicans* merupakan fungi oportunistik patogen dan dikenal sebagai penyebab *Candidiasis* dan *denture stomatitis* (Rostiny, 1996: 113).

2.2.2 Morfologi dan Identifikasi

Morfologi dan identifikasi dalam bentuk sel ragi atau *blastospora* serta hifa semu. Hifa merupakan bentuk invasive dan patogen. Koloni beberapa spesies *C. albicans* sering berubah bentuk sesuai lingkungan dan lokasinya dalam rongga mulut, sebagai bentuk komensal atau patogen oportunistik (Jawetz dkk, 1996: 627).

Pada sediaan pus eksudat, *C. albicans* tampak sebagai ragi lonjong, bertunas, gram-positif, berukuran 2-3 x 4-6 μm , dan sel-sel bertunas, gram positif yang memanjang menyerupai hifa (*pseudo hifa*), berbentuk koloni-koloni lunak berwarna coklat menyerupai bau seperti ragi. Pertumbuhan dibawahnya terdiri atas *pseudomiselium* yang terdiri dari *pseudo hifa* yang membentuk *blaskonodi* pada nodus-nodus dan kadang-kadang *klamidokonidia* pada ujung-ujungnya (Jawetz, 1996: 627-628).

2.2.3 Klasifikasi *C. albicans*

Kedudukan *C. albicans* dalam nomenklatur menurut Romes (1978) dan Supriatno, (1998) dalam Parnaadji (1999: 15), sebagai berikut dibawah ini.

Spesies	: <i>Candida albicans</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Famili	: <i>Candidoidea</i>
Ordo	: <i>Cryptococcaceae</i>
Kelas	: <i>Deuteromycetes</i>
Divisi	: <i>Eurocophyta</i>

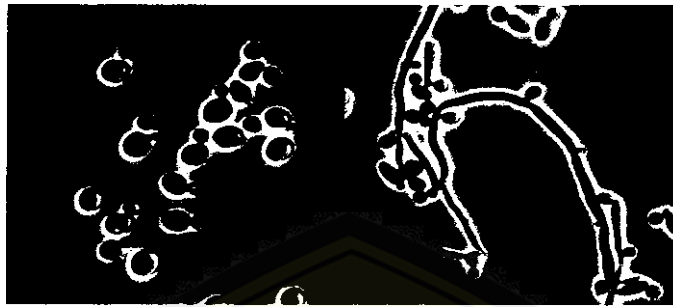
2.2.4 Beberapa Ciri *C. albicans*

Pada sediaan pus eksudat, *C. albicans* tampak sebagai ragi lonjong, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6 μm , dan sel-sel bertunas yang memanjang menyerupai hifa (*pseudohifa*) (Jawetz dkk., 1996: 627).

Kandida merupakan organisme komensal dari saluran gastrointestinal pada manusia. Sampai saat ini dikenal kurang lebih 80 spesies yang hidup dalam berbagai unsur dan organisme, 17 diantaranya ditemukan pada manusia. Sedangkan spesies kandida yang paling infeksius adalah *Candida albicans*. *Candida albicans* adalah suatu spesies jamur dimorfik dengan dua fase pertumbuhan tunas yaitu blastospora dan hifa. Bentuk yang lebih jelas dapat terlihat pada media yang mengandung garam, karbon, nitrogen dan fosfat. Dalam media ini terdapat tiga morfologi *Candida albicans*, yaitu:

1. Yeast/yeast like; berbentuk bulat, oval, diameter 1,5 – 5 μm dengan panjang 3 – 4 μm .
2. Mycellium yang memiliki ekor panjang dengan tonjolan yang membentuk *pseudomycellium*.
3. *Clamydospora* yang merupakan betuk hifa (Hartono, dalam Sukanton, 2003: 117 dan Dewanti, 2007).

Untuk menjaga kelangsungan hidup, *Candida albicans* memerlukan senyawa organik seperti karbon dan sumber energi. Hal ini dapat dipenuhi dari karbohidrat. Jamur ini merupakan organisme fakultatif anaerob yang mampu melakukan metabolisme sel baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Karbohidrat yang tersedia digunakan sebagai bahan metabolisme sel dengan mengubahnya menjadi CO_2 dan H_2O dalam suasana aerob. Jika metabolisme dilakukan dalam kondisi anaerob, hasil metabolisme adalah asam laktat atau etanol dan CO_2 . Dari serangkaian proses fermentasi anaerob tersebut dihasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan untuk proses oksidasi dan pernafasan (Ellis, 1994; Riana, 2006).



A B
Gambar 2.3 Hifa (A) dan spora (B)
Sumber: Anonimous, 2008

2.2.5 Patogenesis *C. albicans*

C. albicans merupakan jamur dimorfik, jamur ini dapat menimbulkan infeksi superficial di kulit dan membran mukosa (Dewanti, 2003: 342). *Candidiasis* merupakan infeksi dalam mulut yang paling sering terjadi. Hampir semua orang pernah terpapar *C. albicans* dalam bentuk akut atau kronik. *C. albicans* biasanya disebut agen infeksi oportunistik dengan jumlah faktor predisposisi, antara lain: obat-obatan (antibiotik dan steroid), *inisiasi* lokal gigi tiruan, alat ortodonsia, perokok berat, radiasi, usia, penyakit sistemik dan sebagainya (Jawetz dkk., 1996: 627).

Faktor predisposisi berperan dalam meningkatkan pertumbuhan *C. albicans* serta memudahkan invasi jamur ke dalam jaringan tubuh manusia karena adanya perubahan dalam sistem pertahanan tubuh. *Blastospora* berkembang menjadi hifa semu dan tekanan dari hifa semu tersebut merusak jaringan, sehingga invasi ke dalam jaringan dapat terjadi. Virulensi ditentukan oleh kemampuan jamur tersebut merusak jaringan serta invasi ke dalam jaringan. Enzim-enzim yang berperan dalam virulensi adalah enzim-enzim hidrolitik seperti proteinase, lipase dan fosfolipase (Riana, 2006).

Penyelidikan lebih lanjut membuktikan bahwa sifat patogenitas tidak berhubungan dengan ditemukannya *C. albicans* dalam bentuk *blastospora* atau hifa di dalam jaringan. Terjadinya kedua bentuk tersebut dipengaruhi oleh tersedianya nutrisi, yang dapat ditunjukkan pada suatu percobaan di luar tubuh. Pada keadaan

yang menghambat pembentukan tunas dengan bebas, tetapi yang masih memungkinkan jamur tumbuh, maka dibentuk hifa (Riana, 2006).

Rippon (1974) mengemukakan bahwa bentuk *blastospora* diperlukan untuk memulai suatu lesi pada jaringan. Sesudah terjadi lesi, dibentuk hifa yang melakukan invasi. dengan proses tersebut terjadilah reaksi radang. Pada *candidiasis* akut biasanya hanya terdapat *blastospora*, sedangkan pada menahun didapatkan *miselium*. *Candidiasis* di permukaan alat dalam biasanya hanya mengandung *blastospora* yang berjumlah besar, dan pada stadium lanjut tampak hifa.

Patogenitas *Candida albicans* ditentukan oleh dinding selnya yang langsung berkontak dengan sel pejamu. Dinding sel *Candida albicans* memiliki sifat *immunosupressive* yang dapat meningkatkan kualitas pertahanan dirinya terhadap imunitas pejamu (Fouche et al., 1987; Farah, 2001). *Candida albicans* juga dapat penetrasi ke dalam mukosa dan berinvasi ke dalam jaringan dengan adanya aktivitas enzim proteinase aspartil. Keparahan infeksi juga ditentukan oleh adanya bentukan hifa yang terdapat pada koloni *Candida albicans*. Hifa memiliki daya virulensi yang tinggi karena ukurannya yang besar sehingga sulit untuk difagositosis makrofag dan hifa memiliki kemampuan regenerasi dan berkembang biak yang lebih besar.

Kandidiasis Rongga Mulut

Burket dan Brightman, dalam Marwati (2000), menjelaskan bahwa gambaran klinis kandidiasis dapat dikelompokkan dalam empat kelompok, yaitu:

a. Kandidiasis Pseudomembran akut

Kandidiasis pseudomembran akut adalah suatu infeksi oportunistik yang disebabkan oleh pertumbuhan berlebihan dari jamur *Candida albicans* (Langlais dan Miller, 1998). Penyakit ini merupakan suatu infeksi superfisial dan lapisan atas epithelium mukosa mulut dan mengakibatkan terbentuknya plak putih pada permukaan mukosa yang terdiri atas sel-sel epitel yang berdeskuamasi, sel-sel radang, fibrin, ragi dan elemen miselia. Mukosa disekelilingnya dapat berwarna merah. Pada

saat dilakukan swab plak dengan gosokan atau kerokan yang lembut, dapat meninggalkan daerah kemerahan atau bahkan ulserasi yang dangkal (Lynch, 1993).

Thrush dapat terjadi pada segala umur tetapi yang paling sering ditemukan pada bayi dan lansia dengan imunitas yang rendah. Pada bayi keadaan tersebut timbul pada hari ke 2 – 5 dan tampak berupa bercak putih pada bibir, pipi, palatum dan lidah. Mukosa di sekitarnya tidak meradang dan terdapat lapisan pseudomembran yang sulit dikerok, terlihat sebagai daerah mukosa yang tererosi. Pada orang dewasa *thrush* timbul pada orang yang lemah dengan kelainan-kelainan seperti penyebaran tumor ganas, operasi atau perawatan dengan antibiotik, steroid dan kombinasi dari keadaan tersebut (Haskell dan Gayford, 1990).

Diagnosa dapat ditentukan dengan pemeriksaan klinis, kultur jamur, atau pemeriksaan mikroskopis secara langsung dari swab jaringan. Melalui swab sitologik dengan pewarnaan potassium hidroksida (KOH) akan terlihat gambaran organisme yang sedang bermitosis dengan pseudohifa yang bercabang-cabang (Langlais dan Miller, 1998).

b. Kandidiasis Atropik Akut

Penggunaan antibiotik spektrum luas terutama tetrasiklin dapat mengakibatkan suatu kelainan rongga mulut yang disebut akut atropik kandidiasis. Infeksi jamur ini adalah akibat dari ketidak seimbangan ekosistem oral antara *Lactobacillus acidophilus* dan *Candida albicans*. Infeksi tersebut mengakibatkan daerah mukosa permukaan mengelupas dan menimbulkan bercak-bercak warna merah difus yang rata. Keluhan utam yang timbul adalah rasa sakit seperti terbakar. Jika seseorang menggunakan terapi antibiotik sistemik, dapat terjadi lesi pada mukosa pipi, bibir dan orofaring. Sedangkan penggunaan antibiotik hisap dapat mengakibatkan lidah dan palatum memerah (Langlais dan Miller, 1998). Diagnosis kurang dapat ditegakkan pada pasien yang rajin membersihkan giginya atau memakai obat kumur sesaat sebelum pemeriksaan (Lynch, 1993).

c. Kandidiasis Atropik kronis

Meliputi *denture sore mouth* dan *angular cheilitis*. *Denture sore mouth* merupakan suatu peradangan difus dari daerah pendukung gigi tiruan rahang atas, dengan atau tanpa disertai dengan tanda pecah-pecah dan peradangan pada komisura mulut (Lynch, 1993).

Kronik atropik kandidiasis disebabkan oleh organisme candida yang ada di bawah dasar gigi tiruan. Ada tiga tahap perubahan mukosa dalam proses kandidiasis ini. Lesi yang paling dini adalah daerah-daerah hiperemi sebesar ujung jarum, berwarna merah dan terbatas pada muara kelenjar saliva minor bagian palatal. Jika melanjut akan menjadi eritema difus pada palatum keras yang kadang-kadang disertai dengan pengelupasan epitel. Tahap ketiga adalah hiperplasi papilla. Jarang sekali keadaan ini berlanjut ke tahap keempat yaitu pembesaran papil-papil palatum yang membentuk nodula-nodula pada atap palatum (Langlais dan Miller, 1998).

d. Kandidiasis Hiperplastik kronik

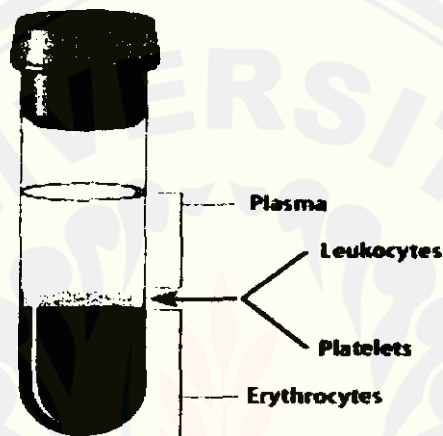
Disebabkan oleh candida yang menembus permukaan mukosa dan menstimulasi respon hiperplastik. Iritasi kronis, kebersihan mulut yang jelek dan xerostomia merupakan faktor predisposisi, oleh karena itu perokok dan pemakai gigi tiruan sering mengalami kandidiasis ini. Daerah yang paling sering terkena adalah dorsum lidah, palatum dan sudut bibir. Reaksi yang terjadi berupa adanya tepi yang membesar dan tegas dengan permukaan putih berbintil-bintil. Dengan adanya tanda-tanda tersebut, hal ini sangat mirip dengan leukoplakia atau eritroleukoplakia. Komponen eritematousik yang ada merupakan akibat dari rusaknya sel mukosa. Lesi yang ada dapat menetap selama bertahun-tahun dan bersifat resisten (Langlais dan Miller, 1998).

2.3 Laju Endap Darah

2.3.1 Definisi Laju Endap Darah

Menurut Wikimedia Foundation (2008), laju endap darah (LED) atau disebut juga dengan *Sed rate*, *sedimentation rate* dan *Biernacki Reaction*, adalah suatu

pemeriksaan hematologi tentang ukuran kecepatan sel-sel darah merah mengendap dalam jangka waktu satu jam dalam satuan mm/jam. Sedangkan menurut Bridgen (1999), laju endap darah merupakan tes pengukuran jarak pengendapan eritrosit dalam suatu antikoagulan setelah satu jam dalam suatu tabung vertikal dengan pengaruh gaya gravitasi.



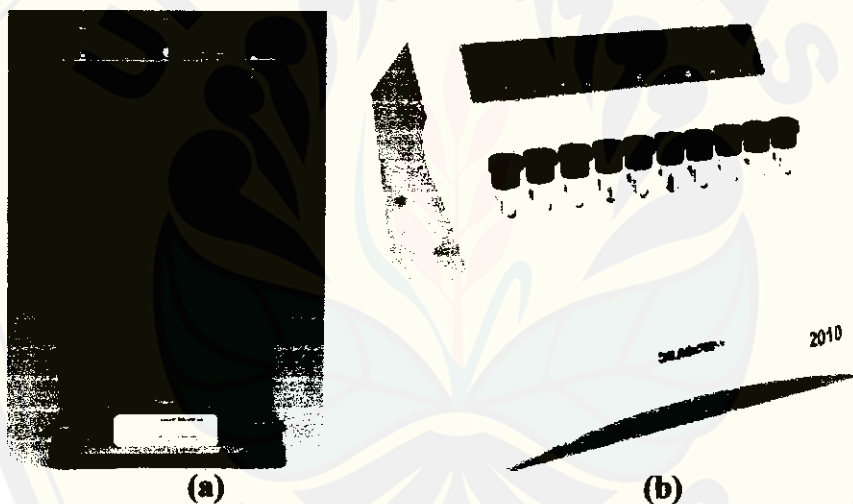
Gambar 2.4 Sampel sedimentasi darah pada saat pengukuran LED

Sumber: Kabat, 2006

2.3.2 Sejarah dan Perkembangan LED

LED sudah digunakan sebagai tes penunjang penegakan diagnosa sejak periode akhir abad ke-18. Menurut data yang dihimpun dalam situs Wikimedia Foundation, uji hematologi laboratoris ini pertama kali ditemukan oleh seorang dokter Polandia, Edmund Biernacki, pada tahun 1897. Kemudian pada tahun 1918, ahli Patologi Swedia, Roberto Sanno Fåhræus, mengumumkan tes hematologi yang sama yang selanjutnya diteruskan oleh Alf Vilhelm Albertsson Westergren yang mengembangkan uji ini dengan menggunakan spesimen antikoagulan sodium sitrat. Setelah itu tes ini dikenal dengan nama tes Fåhræus-Westergren (di Inggris hanya dikenal dengan Uji Westergren) (Wikimedia, 2008).

Pada zaman modern saat ini, uji ini tetap digunakan sebagai penunjang untuk mendiagnosis berbagai macam penyakit, misalnya *myeloma*, *temporal arteritis*, *polymyalgia rheumatica* dan *penyakit autoimun*, *Lupus sistemica*, *rheumatoid arthritis*, gangguan ginjal kronis, maupun sebagai *differential diagnosa* untuk *Kawasaki's disease* (Wikimedia, 2008 dan Saadeh 1998). Namun seiring perkembangan teknologi, uji LED saat ini tidak lagi menggunakan pembacaan secara manual. Saat ini sudah berkembang alat uji LED secara otomatis dan digital yang mampu menghasilkan data yang akurat dan meminimalisir terjadinya infeksi silang terhadap operator (Dragon medical, 2008).



Gambar 2.5 Tabung Westergren (a) Manual, dan (b) Digital
Sumber: Guest-medical, 2007 dan Dragon-Medical, 2008

2.3.3 Nilai LED

Menurut Saadeh (1998), nilai normal LED berdasarkan metode Westergren adalah 0 – 15 mm/jam pada pria dewasa, 0 – 20 mm/jam pada wanita dewasa dan 0 – 10 mm/jam pada anak-anak. Pada pria usia diatas 50 tahun, nilai normal LED sebesar 0 – 20 mm/jam dan pada wanita usia diatas 50 tahun sebesar 0 – 30 mm/jam (Brigden, 1999).

Selain itu, dapat juga digunakan suatu rumus untuk menentukan nilai LED normal, yaitu:

$$\text{LED normal pada pria (mm/jam)} = \text{usia} / 2$$

$$\text{LED normal pada wanita (mm/jam)} = (\text{usia} + 10) / 2$$

(sumber: Kabat, 2006)

Sedangkan pada bayi baru lahir, nilai LED normal berkisar antara 0 – 2 mm/jam (Wikimedia, 2008).

Pada keadaan normal, sel darah merah tidak akan mengendap terlalu jauh dari ujung tabung. Hal ini dipengaruhi oleh adanya keseimbangan faktor pro-sedimentasi, terutama fibrinogen, dan beberapa faktor penghambat sedimentasi, yang disebut dengan *negative-charge* eritrosit (zeta potensial). Dengan adanya pengaruh dari berbagai macam penyakit, akan menyebabkan peningkatan proporsi fibrinogen pada darah dan mengakibatkan sel-sel darah merah untuk bergerak saling mendekat, menumpuk satu sama lain dan berikatan membentuk *rouleaux*. Dalam keadaan demikian, sel darah merah akan menjadi lebih berat dan akan semakin cepat mengendap. Semakin banyak sel-sel darah yang membentuk *rouleaux*, nilai LED akan semakin besar (Nonderson, 2002 dan Wikimedia, 2008).

2.3.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi LED

Besar LED sangat dipengaruhi dengan usia. Semakin bertambahnya usia, maka semakin meningkat pula nilai LED. Oleh karena itu, untuk menentukan nilai LED seseorang sebaiknya digunakan rumus seperti yang telah disebutkan pada bahasan sebelumnya (Kabat, 2006). Berdasarkan beberapa penelitian diketahui bahwa nilai normal LED darah tertinggi biasanya dicapai pada usia 65 – 74 tahun (Saadeh, 1998).

LED disebut juga sebagai uji reaktan fase akut, yang berarti LED merupakan reaksi tubuh dalam kondisi akut yang bisa disebabkan karena infeksi atau trauma (Nonderson, 2002). Kenaikan nilai LED dipengaruhi oleh banyak faktor, selain usia. LED dapat meningkat secara sementara pada wanita yang sedang mengalami menstruasi dan kehamilan. Selain itu mengkonsumsi obat-obatan seperti *dextran*, *methyl dopa* (Aldoment), kontrasepsi oral, *penicillamine procainamide*, *theophylline* dan vitamin A dapat meningkatkan nilai LED (American Association for Clinical Chemistry, 2008).

Penurunan nilai LED dapat disebabkan oleh perubahan bentuk sel, misalnya karena *sickle-cell disease*, yang menyebabkan sel-sel darah merah tidak dapat berikatan satu dengan lainnya. Selain itu kelainan yang menyebabkan produksi protein menurun atau yang meningkatkan sel darah merah (polisitemia) juga dapat menyebabkan penurunan LED (Nondersen, 2002). Konsumsi aspirin, kortison dan quinin juga dapat menyebabkan penurunan nilai LED (American Association for Clinical Chemistry, 2008). Untuk selengkapnya, faktor-faktor yang mempengaruhi nilai LED terdapat pada tabel 2.1.

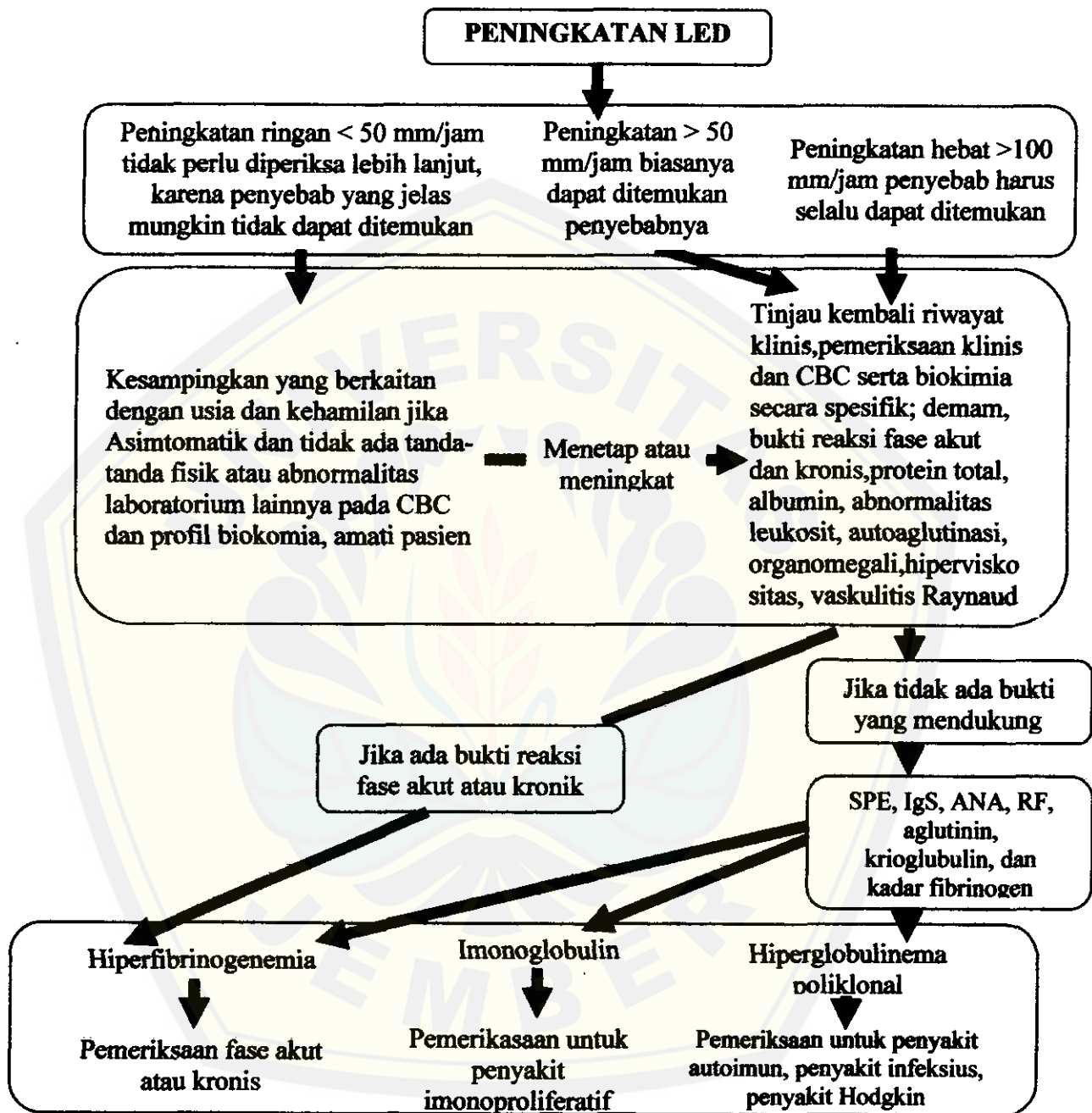
TABEL 2.1

Faktor-faktor yang mempengaruhi LED

Faktor-faktor yang meningkatkan nilai LED	Faktor-faktor yang menurunkan nilai LED	Faktor yang belum terbukti mempengaruhi nilai LED
<ol style="list-style-type: none"> 1. Pertambahan usia 2. Gender wanita 3. Kehamilan 4. Anemia 5. Abnormalitas SDM (Macrocytosis) 6. Faktor teknis <ul style="list-style-type: none"> • Masalah dilusi • Peningkatan suhu pada sampel • Kemiringan tabung LED 7. Peningkatan Kadar Fibrinogen: <ul style="list-style-type: none"> • Infeksi • Inflamasi • Malignansi 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Leukositosis Ekstrim 2. Polycythemia 3. Abnormalitas SDM <ul style="list-style-type: none"> • Spherocytosis • Acanthocytosis • Microcytosis 4. Faktor teknis <ul style="list-style-type: none"> • Masalah dilusi • Pencampuran tidak adekuat • Pembekuan sampel • Tabung LED terlalu pendek • Adanya vbrasi selama pengamatan 5. Abnormalitas protein <ul style="list-style-type: none"> • Hypofibrinogenemia • Hypogammaglobulinemia • Dysproteinemia dengan hyperviscosity 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Obesitas 2. Temperatur tubuh 3. Pola makan 4. Aspirin 5. NSAID

Sumber: Brigden, 1999

Nilai LED dapat juga meningkat tanpa diketahui sebab yang pasti. Isbister dan Pittligio (1999) memberikan suatu rumusan tentang pendekatan praktis dalam pemeriksaan peningkatan nilai LED. Bagan pendekatan tersaji pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Pendekatan praktis terhadap pemeriksaan LED yang meningkat

Sumber: Isbister dan Pittligio, 1999

2.3.5 Peran LED dalam penegakan diagnosa

LED dikenal sebagai pedoman yang sangat penting untuk mendiagnosa, terutama pada kasus polimyalgia reumatika dan temporal arteritis. LED juga digunakan untuk mengikuti perkembangan gangguan jaringan ikat (Bridgen, 1999). Uji hematologi ini dapat mendiagnosis adanya peradangan atau tidak. Pada kondisi peradangan biasanya LED digunakan sebagai reaktan fase akut dan dipengaruhi juga oleh sitokin. Sedangkan pada keadaan nonkeradangan, dapat digunakan sebagai penentu prognosis penyakit, seperti kanker prostat, jantung koroner dan stroke. Dapat disimpulkan bahwa LED penting untuk mendiagnosis penyakit peradangan dan menentukan prognosis pada keadaan nonkeradangan (Saadeh, 1998).

Penelitian-penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa LED juga dapat digunakan sebagai uji klinis infeksi spesifik, seperti infeksi yang berhubungan dengan protesa orthopedi, infeksi bakteri pediatrik maupun pada kelainan inflamasi ginekologi. Peningkatan nilai LED merupakan suatu petunjuk adanya invasi infeksi bakteri pada anak-anak setelah 48 jam terjadi gejala. Pada penelitian yang lain, LED lebih akurat dalam mendeteksi keparahan penyakit inflamasi pelvis dibandingkan dengan pemeriksaan fisik, dan hal ini sangat membantu dalam mengevaluasi pasien yang memerlukan terapi antimikroba. LED dapat juga digunakan untuk membedakan anemia karena defisiensi zat besi dengan anemia pada pasien kronis (Brigden, 1999).

Selain uji LED, untuk mengetahui adanya inflamasi juga dapat dilakukan tes Protein C-reaktif (*C-reactive protein/CRP*). Keduanya merupakan indikator inflamasi-infeksi. Secara umum, LED tidak mengalami perubahan dalam waktu singkat, sedangkan CRP hanya bertahan dalam jangka waktu 6-8 jam setelah infeksi. Lewat jangka waktu tersebut, pemeriksaan CRP tidak dapat digunakan lagi. Namun, jika dibandingkan dengan LED, CRP memiliki lebih sedikit faktor-faktor pengganggu. Walaupun demikian, karena LED merupakan suatu uji yang sederhana, LED tetap menjadi pilihan utama dalam *initial test* pada pasien yang dicurigai terinflamasi atau terinfeksi (Lab Test, 2008 dan Wikimedia, 2008). Secara sederhana,

tabel perbandingan uji LED dengan CRP dan viskositas plasma disajikan pada tabel 2.2.

TABEL 2.2
Perbandingan uji LED, *C-reactive Protein* dan Viskositas Plasma

Test	Keuntungan	Kekurangan
LED	Tidak mahal, cepat, sederhana	Dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk anemia ukuran sel darah merah; sensitifitas rendah
<i>C-reactive protein</i>	Respon cepat terhadap inflamasi dan infeksi, tidak banyak faktor pengganggu	Mahal, memerlukan proses yang panjang yang dapat memperlama hasil tes
Viskositas Plasma	Tidak terpengaruh dengan anemia maupun ukuran sel darah merah	Mahal, tidak tersedia secara luas, secara teknis memiliki tingkat kesulitan yang tinggi

Sumber: Brigden, 1999

2.4 Hubungan Daun Mimba dan Respon Imun terhadap nilai Laju Endap Darah

Mimba (*Azadirachta indica juss*) yang memiliki kandungan senyawa *azadirachtin, salanine, meliantrirole, nimbin, nimbolide, gedunine, mahmodine, gallic acid, catechin, epicatechin, margolone, margolonone, isomargolonone, cyclictrisulphide, cyclictetrasulphide* dan *polisakarida* bermanfaat sebagai antijamur, antimalaria, antibakteri, antipiretik dan imunomodulator (Kardiman, 1999). Mimba juga dapat memodulasi PMN, makrofag dan limfosit sehingga mempengaruhi aktivitas fagositosis. Sel-sel yang termodulasi akan mempengaruhi produksi IL-12 dan ekspresi MHC (*Major Histocompatibility Complex*) klas II dan klas I. IL-12 akan mempengaruhi deferensiasi Th0 menjadi Th1 dan Th2, sehingga akan berpengaruh pada ekspresi CD4, CD8 serta produksi TNF α , IFN γ , aktivitas makrofag dan

imunoglobulin. Dari hal tersebut dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa mimba dapat memodulasi respon imunitas alami, seluler dan humoral (Dewanti, 2007).

Ray, dalam Dewanti (2007), menyebutkan bahwa mimba dapat memodulasi respon imun seluler dan humoral pada mencit yang diimunisasi dengan ovalbumin. Modulasi respon imun humoral tersebut meliputi peningkatan level Ig G, Ig M, titer antibodi anti-ovalbumin. Dari ulasan di atas, dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa mimba, yang dapat memodulasi respon imun tubuh, akan mampu mempengaruhi nilai LED. Dalam hal ini jika terjadi suatu infeksi, maka kecepatan pengendapan eritrosit akan semakin meningkat. Namun jika terjadi modulasi respon imun oleh aktivitas mimba, kecepatan LED dapat diturunkan.

2.5 Hubungan *Candida albicans* terhadap nilai Laju Endap Darah

Patogenitas *Candida albicans* ditentukan oleh dinding selnya yang langsung berkontak dengan sel pejamu. Dinding sel *Candida albicans*, yang mengandung kitin, glukukan dan mannoprotein, memiliki sifat *immunosuppressive* yang dapat meningkatkan kualitas pertahanan dirinya terhadap imunitas pejamu (Fouche et al., 1987; Farah, 2001). *Candida albicans* juga dapat penetrasi ke dalam mukosa dan berinvasi ke dalam jaringan dengan adanya aktivitas enzim proteinase aspartil. Dalam menentukan keparahan infeksi dapat dilihat pada adanya bentukan hifa yang terdapat pada koloni bakteri *Candida albicans*. Hifa memiliki daya virulensi yang tinggi karena ukurannya yang besar sehingga sulit untuk difagositosis makrofag dan hifa memiliki kemampuan regenerasi dan berkembang biak yang lebih besar (Dewanti, 2007).

Privarcsi, dalam Dewanti (2007), menyebutkan bahwa *Candida albicans* menyebabkan imunosupresi pada TLR2 dan di sisi lain meningkatkan ekspresi IL-10. Penurunan aktivitas TLR2 dapat mengaktifkan sitokin proinflamatori yang dapat berpengaruh terhadap penurunan fungsi mikrobisidal. Lebih jauh lagi, *Candida albicans* yang diinokulasikan pada tikus dapat menurunkan serum Ig G dan menyebabkan diferensiasi sel *T-helper* (Dewanti, 2004). Dari menurunnya respon

imun pejamu akan menyebabkan terjadinya peradangan dan infeksi pada tubuh pejamu tersebut. Hal ini akan menyebabkan terjadinya peningkatan proporsi fibrinogen pada darah. Peningkatan fibrinogen ini mengakibatkan sel-sel darah merah untuk bergerak saling mendekat, menumpuk satu sama lain dan berikatan membentuk *rouleaux*. Dalam keadaan demikian, sel darah merah akan menjadi lebih berat dan akan semakin cepat mengendap. Semakin banyak sel-sel darah yang membentuk *rouleaux*, nilai LED akan semakin besar (Nonderson, 2002 dan Wikimedia, 2008).

2.6 Hubungan Daun Mimba terhadap nilai Laju Endap Darah dan *Candida albicans*

Daun mimba telah diketahui memiliki aktivitas imunomodulator maupun aktivitas fungisida. Kandungan *Nimbolide*, *Gedunin*, *Cyclic trisulphide*, *Galic acid*, *epicatechin* dan *catechin* berperan utama dalam aktivitas mimba sebagai fungisida, antiinflamasi dan imunomodulator (Dewanti, 2007). Sifat imunomodulator dan fungisida dari mimba tersebut dapat menghambat terjadinya infeksi yang disebabkan oleh agen-agen yang patogen bagi tubuh, termasuk infeksi karena *Candida albicans* yang mengandalkan perubahan imunitas pejamu untuk menginfeksi pada tubuh.

Paparan *Candida albicans* secara intrakutan akan mempercepat proses terjadinya infeksi. Infeksi ini akan menyebabkan terganggunya imunitas humoral maupun seluler pejamu. Dengan demikian, nilai LED akan meningkat seiring dengan infeksi yang terjadi. Dengan pemberian daun mimba yang mempunyai efek meningkatkan respons imun, maka infeksi dari *Candida albicans* dapat dihambat sehingga diharapkan nilai laju endap darah (LED) dapat diturunkan.

2.7 Tikus Wistar Jantan

Tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini sesuai dengan pendapat Baker, *et al*, (1980) bahwa tikus digunakan secara ekstensif sebagai hewan coba untuk mempelajari biologi dan patologi dari jaringan rongga mulut. Spesies ini telah berguna dalam penelitian kedokteran gigi untuk menjelaskan informasi biologi yang berharga untuk membuktikan pengertian dari mekanisme dasar proses penyakit. Disamping itu juga berfungsi sebagai fasilitas untuk eksperimen secara klinis dan epidemiologi yang dimaksud untuk memberikan informasi yang dapat diaplikasikan secara langsung pada manusia. Dalam hal ini tikus putih merupakan hewan mamalia yang sering digunakan dalam suatu percobaan dengan perlakuan secara konvensional.

Tikus Wistar merupakan bagian galur dari tikus albino yang termasuk spesies *Rattus norvegicus*. Galur ini dikembangkan di Institut wistar untuk kepentingan penelitian biologis dan kesehatan. Sebagian besar galur tikus laboratorium dikembangkan dari koloni tikus di Institut wistar pada tahun 1906 oleh ahli fisiologi Amerika, Henry Donaldson. Tikus ini dicirikan dengan kepala yang lebar, telinga yang panjang, dan ekor yang selalu lebih pendek dari pada panjang tubuhnya (Wikimedia, 2008).

Panjang tikus ini dapat mencapai 40 cm, meskipun yang paling umum 25 cm, dengan ekor tidak lebih dari 15 cm (kurang dari setengah panjang tubuh). Berat badan dewasa muda mencapai 320 gr untuk jantan dan sekitar 200 gr untuk betina, namun dalam individual tertentu berat dapat mencapai 500 gr. *Heart rate* antara 300 hingga 400 kali denyut/menit, dengan *respiratory rate* mencapai sekitar 100 kali/menit. Penglihatannya sangat minim dan tidak memiliki kemampuan untuk mengenali warna dan tidak dapat melihat sinar gelombang jauh (Wikimedia, 2008). Dengan uraian di atas, penggunaan tikus wistar jantan sebagai sampel penelitian yang bersifat eksperimental laboratoris sangat tepat. Selain itu, diketahui bahwa nilai LED normal pada tikus berkisar antara 0,7 mm/jam untuk jantan dan 1,8 mm/jam untuk tikus betina (Baker, 1980).

2.8 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah nilai LED pada tikus wistar yang diberi ekstrak daun mimba (*Azadirachta Indica Juss*) dan dipapar dengan *C. albicans* lebih rendah dibandingkan dengan nilai LED pada tikus yang hanya dipapar dengan *C. albicans* saja.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental laboratoris. Dipilih jenis ini karena baik pada sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya. Adapun rancang penelitian yang digunakan adalah rancang postes dengan kelompok kontrol (*The Post Test Only Control Group Design*) (Notoatmojo, 2002).

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Bagian Biomedik Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.1.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2008 sampai dengan Juli 2008.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun mimba.

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai laju endap darah.

3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah :

- a. Jenis kelamin tikus
- b. minuman dan makanan standar tikus

- c. cara pemeliharaan
- d. dosis ekstrak daun mimba
- e. jumlah dan teknik injeksi *Candida albicans*
- f. waktu pengambilan sampel
- g. prosedur penelitian

3.3 Definisi Operasional Penelitian

3.3.1 Ekstrak Daun Mimba

Ekstrak daun mimba adalah daun mimba yang dilakukan ekstraksi secara maserasi dengan pelarut *n-heksana*. Ampas diekstraksi kembali dengan cara sohlet menggunakan pelarut etanol 96 %. Ekstrak etanol diuapkan dengan tekanan rendah dalam rotavapor. Ekstrak yang didapat ini kemudian dibuat suspensi dalam CMC Na 0,5%. Hasil pengenceran ekstrak daun mimba diberikan kepada tikus secara per oral dengan menggunakan sonde lambung.

3.3.2 Nilai Laju Endap Darah

Nilai Laju Endap Darah adalah mengukur eritrosit yang turun ke dasar tabung setelah satu jam pada darah yang diberi anti koagulan tertentu dan diletakkan secara vertikal yang dipengaruhi oleh gaya gravitasi. Pengukuran menggunakan metode Westergren, yaitu menggunakan sampel darah yang telah diberi antikoagulan tertentu dimasukkan ke dalam tabung Westergren dan dicatat kecepatan pengendapan sel darahnya. Tabung tersebut berukuran panjang 300 mm, garis tengah 2,5 mm, dan diberi pembagian 0 - 200 mm, kedua ujung tabung terbuka. Kemudian tabung diletakkan pada rak secara vertikal, dibawah terdapat karet untuk penutup lubang tabung, sedangkan di bagian atas terdapat pegas untuk menekan tabung ke bawah. Nilai Laju Endap Darah diukur setelah 1 jam (Brigden, 1999).

3.3.3 *Candida albicans*

Sediaan *Candida albicans* didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar galur murni dengan jenis kelamin jantan.

3.4.2 Sampel

3.4.2.1 Kriteria Sampel

Kriteria sampel yang digunakan adalah :

- Tikus wistar jantan
- Berat 100-200 gram
- Berusia 2-3 bulan
- Tikus dalam keadaan sehat

3.4.2.2 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 8 ekor tikus wistar jantan. Adapun besar sampel didapatkan dari perhitungan rumus sebagai berikut :

$$n = \left(\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma D^2}{\delta^2} \right)$$

Keterangan :

- n = Jumlah sampel minimal
 σD^2 = Diasumsikan $\sigma D^2 = \delta^2$
 α = 0,05
 β = 0,20

Berdasarkan tabel, diperoleh :

$$Z\alpha = 1,96$$

$$Z\beta = 0,85$$

Perhitungan besar sampel terdapat pada Lampiran 1. Berdasarkan perhitungan rumus besar sampel di atas, diperoleh besar sampel minimal 8 (Steel and Torrie, 1995).

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat-Alat Penelitian

Alat penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Kandang pemeliharaan
- b. Kandang perlakuan
- c. Tempat makan dan minum
- d. Sonde lambung
- e. Timbangan (neraca Ohaus, *Germany*)
- f. Pisau dan gunting bedah
- g. Sarung tangan (*Latex*)
- h. Masker
- i. Jarum dan papan fiksasi
- j. Pipet
- k. Kapas
- l. Pinset
- m. *Disposyble syiring 3 cc (Terumo, Japan)*
- n. Rak *Westergren* untuk penghitugan LED
- o. *Stopwatch (Diamond, China)*
- p. Tabung sampel

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Tikus wistar
- b. Minuman dan makanan ternak standar tikus wistar ACT
- c. Daun mimba kemudian dibentuk dalam sediaan ekstrak dengan konsentrasi 75%
- d. *Candida albicans*
- e. EDTA
- f. Alkohol 70%

3.6 Konversi Dosis Ekstrak Daun Mimba

Dewanti (2007) menyebutkan bahwa penggunaan obat berbahan daun mimba pada manusia untuk manusia umumnya hanya menggunakan dosis minimum 40 – 80 mg/hari atau 3 – 4 sendok makan tiga kali sehari. Pada penelitian ini, yang menggunakan tikus wistar jantan sebagai sampel, tentunya dosis yang digunakan berbeda dengan dosis pada manusia. Untuk itulah diperlukan konversi dosis pemberian daun mimba.

Konversi dosis manusia (rata-rata 70 kg) ke tikus 200 gr = 0,018

(Suryaningsih, 2006)

Dosis pemberian daun mimba pada manusia per hari = 80 mg

Dosis pemberian daun mimba pada tikus = 0,018 x 80 mg

= 1,44 mg/200 gr BB

Melalui konversi tersebut diketahui dosis minimal pemberian daun mimba untuk tikus adalah 1,44 mg/200 grBB. Hal ini masih dalam batas karena dosis letal pada hewan coba adalah 3 g/kgBB (Dewanti, 2007).

3.7 Prosedur Penelitian

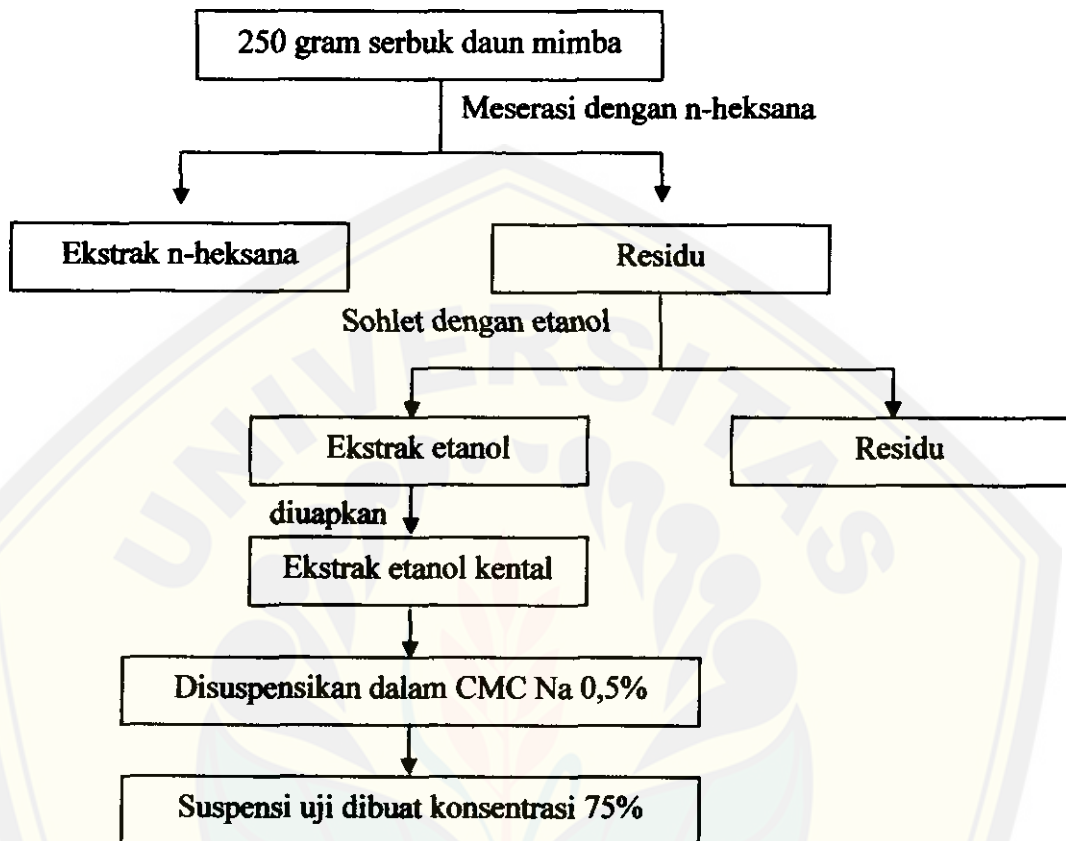
3.7.1 Tahap Persiapan Pembuatan Ekstrak Daun Mimba

Daun mimba dipilih dari batang daun mimba yang masih bagus, tidak kering, tidak rusak dan tidak layu. Daun mimba yang digunakan adalah daun keempat dari pucuk batang teratas. Hal ini karena daun pada batang tersebut tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Daun yang terlalu tua mempunyai banyak kandungan lendir sedangkan daun yang terlalu muda mempunyai banyak kandungan air. Pengambilan daun dilakukan saat fotosintesis paling aktif, yaitu pagi hari sekitar pukul enam, lalu dikeringkan.

3.7.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica Juss*) 75 %

250 gram serbuk daun mimba (*Azadirachta Indica Juss*) ditimbang kemudian dilakukan persiapan untuk maserasi. Setelah itu dilakukan ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut *n-heksana* sampai didapatkan cairan yang jernih. Ampas atau residu diekstraksi kembali dengan cara sohlet menggunakan pelarut etanol 96 %. Ekstrak yang didapat diuapkan dengan tekanan rendah dalam rotavapor sampai didapat jumlah tertentu. Proses ini menghasilkan ekstrak yang dipakai sebagai bahan penelitian dalam bentuk ekstrak kental (pasta).

Ekstrak kental yang didapat kemudian dibuat suspensi dalam CMC Na 0,5% sehingga diperoleh suatu larutan dengan konsentrasi ekstrak mimba 75%. Menurut Dewanti (2007), dosis yang diberikan kepada hewan coba dalam penelitian ini adalah 20 mg/200 grBB. Melalui perhitungan proses pembuatan dosis ekstrak daun mimba diperoleh hasil akhir dosis yang diberikan pada hewan coba adalah 2,5 ml per ekor (perhitungan terdapat pada lampiran).



Gambar 3.1 Skema pembuatan ekstrak daun mimba

3.7.3 Tahap Persiapan Hewan Coba

Hewan coba didapatkan dari Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang. Kemudian diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di Laboratorium Fisiologi FKG Universitas Jember selama satu minggu, diberi makan standart dan air minum setiap hari secara *adlibitum* (sesukanya), dan ditimbang kemudian dikelompokkan secara acak sesuai perlakuan.

3.7.4 Tahap Persiapan *Candida albicans*

Stok *Candida albicans* didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.7.5 Tahap Perlakuan pada Hewan Coba

Untuk kelompok I adalah kelompok kontrol, yaitu tikus yang tidak diberi perlakuan. Untuk kelompok II, tikus dipapar dengan bakteri *Candida albicans* secara intrakutan pada hari ke-20 hingga hari ke-21. Untuk kelompok III, tikus diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak daun mimba dengan menggunakan sonde lambung dengan dosis 2 mg/200 grBB pada hari pertama hingga hari ke-21, kemudian tikus diberi paparan dengan *Candida albicans* secara intrakutan pada hari ke-20 hingga hari ke-21. Jumlah *Candida albicans* yang disuntikkan sebanyak 0,01/100 ml; 0,9 cc/100 gr BB (Pangabdian, 2007).

3.7.6 Tahap Pengambilan Darah

Setelah 21 hari percobaan pada hewan coba, tikus dikorbankan dengan dilakukan inhalasi, kemudian dilakukan pengambilan darah intrakardial dengan syringe untuk dilakukan pemeriksaan nilai LED dengan metode Westergren.

3.7.7 Tahap Pengukuran LED menurut Westergren

Pengukuran LED dilakukan menurut standart Westergren, yaitu:

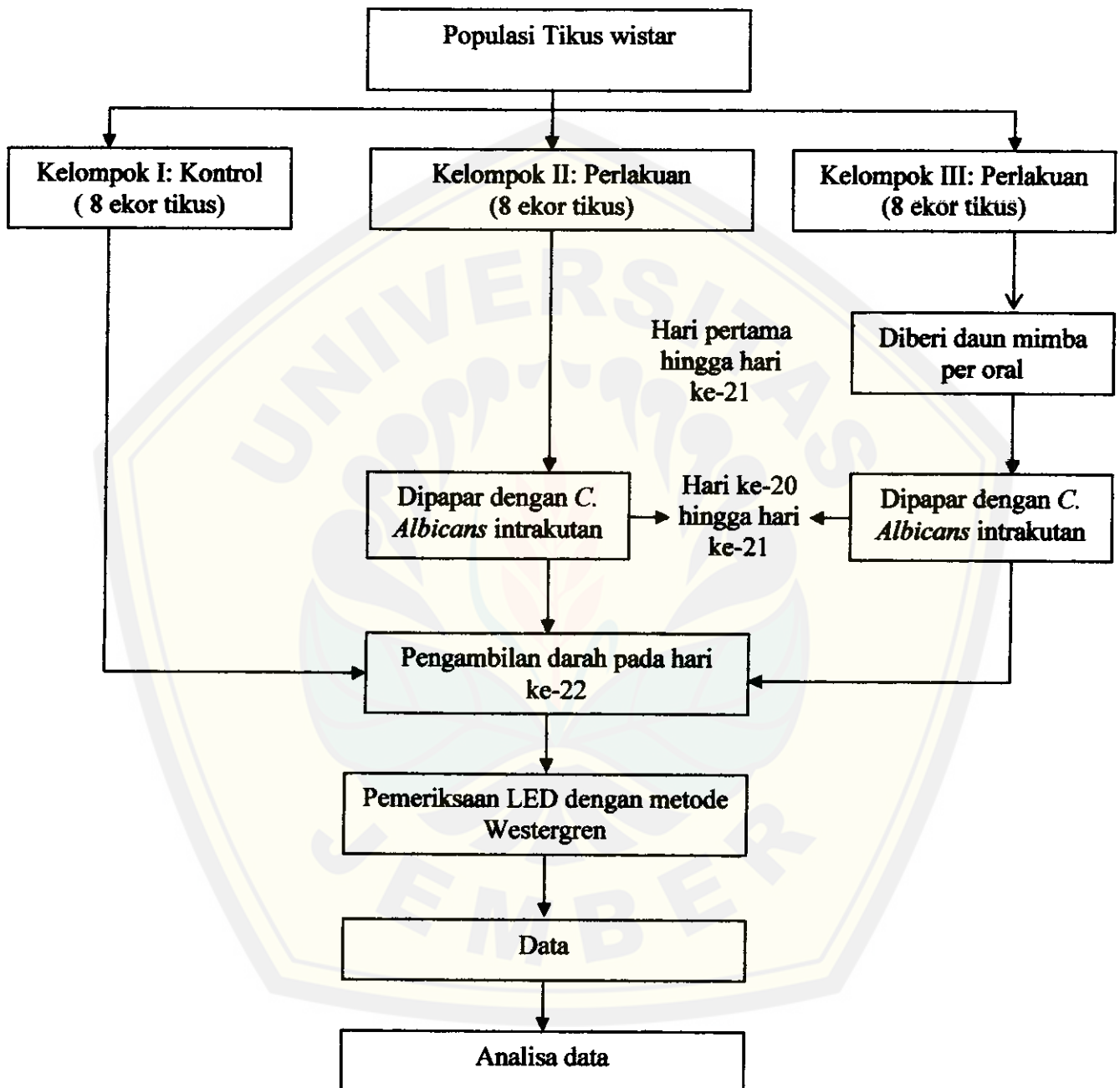
- a. Darah diambil intrakardial dicampurkan dengan antikoagulan EDTA dengan perbandingan 4:1;
- b. Sampel darah yang telah dicampurkan dengan antikoagulan EDTA dimasukkan ke dalam tabung Westergren;
- c. Sampel darah dalam tabung dihisap ke dalam pipet Westergren hingga garis bertanda 0 mm, kemudian pipet diberdirikan secara tegak lurus dalam rak Westergren selama satu jam;
- d. Setelah satu jam, dilakukan pembacaan jarak dari meniskus ke ujung kolom eritrosit dan dicatat sebagai waktu laju endap darah (Pizzorno, 1992).

Nilai LED normal pada tikus adalah 0,7 mm/jam untuk jantan dan 1,8 mm/jam untuk tikus betina (Baker, 1980).

3.8 Analisa Data

Data yang diperoleh ditabulasi, kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas varians untuk mengetahui apakah data tersebut normal dan homogen, dengan taraf kepercayaan $p > 0,05$. Jika hasil uji menunjukkan distribusi yang normal, maka dilanjutkan dengan uji statistik parametrik dengan menggunakan uji analisis varians (ANOVA) dengan derajat kemaknaan 95% ($P < 0,05$). Bila hasil uji tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan uji LSD (Least Significant Difference Test). Apabila pada uji homogenitas menunjukkan bahwa data yang diperoleh tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik Kruskal Wallis dengan derajat kemaknaan 95% ($P < 0,05$). Bila ada perbedaan yang nyata diantara kelompok sampel, dilanjutkan dengan uji statistik Mann-Whitney dengan derajat kemaknaan 95% ($P < 0,05$) (Notoatmojo, 2002).

3.9 Skema Penelitian



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

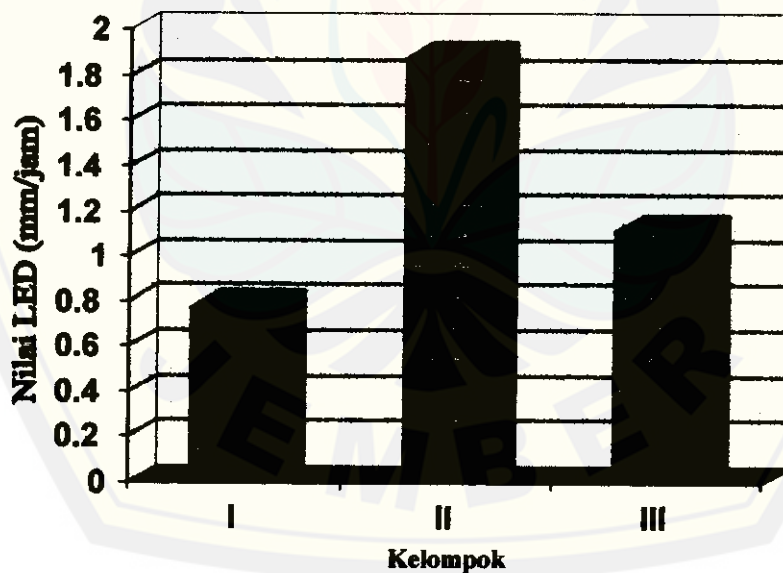
4.1 Hasil

Penelitian mengenai nilai Laju Endap Darah ini telah dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2008. Jumlah keseluruhan sampel sebesar 24 ekor tikus wistar jantan yang terdiri dari tiga kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol yaitu kelompok tikus yang tidak diberi perlakuan. Untuk kelompok II, tikus dipapar dengan bakteri *Candida albicans* secara subkutan pada hari ke-20 hingga hari ke-21. Untuk kelompok III, tikus diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak daun mimba kemudian tikus diberi paparan dengan *Candida albicans*. Besar sampel tiap kelompok adalah 8. Ketiga kelompok mulai dilakukan perlakuan setelah 7 hari diadaptasikan di Bagian Biomedik Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Ketiga kelompok dilakukan pengambilan darah secara intrakardial dan dilakukan pemeriksaan laju endap darah setelah hari ke-21. Pemeriksaan laju endap darah menggunakan tabung dan rak dari Westergren. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember menggunakan metode Westergren.

Dari pengamatan dihasilkan rata-rata LED untuk kelompok kontrol adalah 0,775 dengan standart deviasi 0,0886, untuk kelompok II didapatkan rata-rata 1,8750 dengan standart deviasi 0,1581 dan kelompok III rata-rata 1,1125 dengan standart deviasi 0,08345. Untuk keseluruhan hasil penelitian dapat dilihat pada tabel 4.1 dan nilai rata-rata LED pada masing-masing kelompok tersaji pada gambar 4.1 dalam bentuk histogram.

Tabel 4.1 Hasil pemeriksaan LED pada tikus wistar

	I	II	III
1	0.90	2.10	1.20
2	0.80	2.10	1.10
3	0.70	1.80	1.00
4	0.80	1.70	1.10
5	0.70	1.90	1.20
6	0.90	1.70	1.20
7	0.70	1.80	1.10
8	0.70	1.90	1.00
Total N	8	8	8
Rata-rata	0.7750	1.8750	1.1125
Std. Deviasi	.08864	.15811	.08345

Histogram Rata-Rata Nilai LED**Gambar 4.1** Histogram rata-rata nilai LED pada kelompok kontrol dan perlakuan

Keterangan grafik: (I) Kelompok kontrol; (II) Kelompok yang dipapar *Candida albicans*; (III) Kelompok yang diberi ekstrak daun mimba dan dipapar *Candida albicans*

Hasil data diatas selanjutnya dianalisa menggunakan uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov) dan uji homogenitas varians (*Levene Statistic test*), dilanjutkan dengan uji parametrik *Anova One Way* ($p=0,05$) untuk mengetahui perbandingan LED pada kelompok kontrol, kelompok yang dipapar *Candida albicans* (II), dan kelompok yang diberi ekstrak daun mimba dan dipapar *Candida albicans* (III). Untuk mengetahui pengaruh dari ketiga kelompok tersebut dilakukan uji LSD.

4.2 Analisa Data

Untuk mengetahui apakah data yang telah didapatkan dari hasil pengamatan terdistribusi dengan normal, maka dilakukan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov dan didapatkan hasil uji untuk pemeriksaan LED pada kelompok kontrol yaitu $p=0,462$ ($p>0,05$), sedangkan untuk kelompok II $p=0,942$ ($p>0,05$), dan untuk kelompok III $p=0,828$ ($p>0,05$). Seluruh nilai p dari ketiga kelompok perlakuan tersebut menunjukkan angka lebih besar dari 0,05, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas pada pemeriksaan LED pada kelompok I, II dan III.

	I	II	III
Kolmogorov-Smirnov Z	0.852	0.529	0.644
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.462	0.942	0.828

Kemudian dilakukan *Levene Statistic test* untuk menentukan apakah data yang dihasilkan homogen atau tidak. Uji homogenitas pada pemeriksaan LED didapatkan hasil $p=0,125$ ($p>0,05$), sehingga dapat diketahui bahwa data dari semua kelompok adalah homogen (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas

LED pada Tikus Wistar			
Levene Statistic	df1	df2	Sig
2.304	2	21	0,125

Keterangan :

df1 : derajat bebas kelompok perlakuan

df2 : standart error

sig : probabilitas

Selanjutnya dilakukan uji parametrik *Anova One Way* dengan taraf kepercayaan $p = 0,05$.

Tabel 4.4 Hasil uji parametrik *Anova One Way* pada pemeriksaan LED

LED	Df	F	Sig
Between groups	2	191.386	0,000

Berdasarkan hasil uji parametrik *Anova One Way* untuk pemeriksaan LED $p=0,000$ ($p<0,05$), dalam hal ini terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Setelah dilakukan uji parametrik *Anova One Way* dengan taraf kepercayaan $p = 0,05$, dilakukan uji *Least Significant Difference* (LSD). Hasil dari uji LSD ditampilkan pada tabel 4.5

Tabel 4.5 Hasil uji LSD pada pemeriksaan LED

Variabel	Variabel Perbandingan	Sig
Kelompok I	Kelompok II	0,000
	Kelompok III	0,000
Kelompok II	Kelompok I	0,000
	Kelompok III	0,000
Kelompok III	Kelompok I	0,000
	Kelompok II	0,000

Keterangan: Kelompok I : Kelompok tikus tanpa perlakuan

Kelompok II: Kelompok tikus dengan injeksi *C. albicans*

Kelompok III: Kelompok tikus dengan pemberian daun mimba dan injeksi *C. albicans*

Dari hasil uji LSD pada tabel pemeriksaan LED diatas didapatkan hasil bahwa perbandingan kelompok I dengan kelompok II, kelompok II dengan kelompok III, serta kelompok III dengan kelompok I berbeda secara signifikan $p=0,000$ ($p<0,05$).

Berdasarkan hasil uji statistik dan histogram rata-rata laju endap darah (LED) maka dapat disimpulkan bahwa nilai LED kelompok I adalah paling kecil, disusul kelompok II menunjukkan nilai paling tinggi atau besar, dan kelompok III lebih kecil dari kelompok II tetapi masih lebih besar dari kelompok I.

4.3 Pembahasan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun mimba terhadap nilai laju endap darah (LED) pada tikus wistar jantan yang dipapar *Candida albicans*. Penelitian jenis eksperimental laboratoris dipilih karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya. Ekstrak daun mimba diberikan secara peroral pada tikus dengan dosis 2 mg/200gr BB, yang didapatkan dari hasil perhitungan konversi

dosis. Tikus dipapar *Candida albicans* dengan tujuan untuk memicu respons imun terhadap jejas yang patologis.

Penelitian mengenai LED dipilih karena LED merupakan indikator non spesifik yang sensitif terhadap perubahan-perubahan pada darah. LED penting untuk mendiagnosis penyakit peradangan dan menentukan prognosis pada keadaan nonkeradangan (Saadeh, 1998). LED mempunyai spektrum yang luas dan merupakan pemeriksaan laboratorium yang murah dan sederhana (Isbister dan Pittligio, 1999). LED tetap menjadi pilihan utama dalam *initial test* pada pasien yang dicurigai terinflamasi atau terinfeksi (Lab Test, 2008 dan Wikimedia, 2008).

Brigden (1999), menyebutkan bahwa fibrinogen berperan penting dalam mekanisme meningkatnya nilai LED pada organisme yang mengalami infeksi, inflamasi atau keganasan. Pada keadaan normal, sel darah merah tidak akan mengendap terlalu jauh dari ujung tabung. Dalam keadaan tidak normal, terjadi gangguan keseimbangan faktor pro-sedimentasi, terutama fibrinogen, dan beberapa faktor penghambat sedimentasi, yang disebut dengan *negative-charge* eritrosit (zeta potensial). Keadaan ini akan meningkatkan proporsi fibrinogen pada darah dan mengakibatkan sel-sel darah merah untuk bergerak saling mendekat, menumpuk satu sama lain dan berikatan membentuk *rouleaux*. Dalam keadaan demikian, sel darah merah akan menjadi lebih berat dan akan semakin cepat mengendap. Semakin banyak sel-sel darah yang membentuk *rouleaux*, nilai LED akan semakin besar (Nonderson, 2002 dan Wikimedia, 2008).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dilaboratorium Fisiologi dan Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember didapatkan bahwa hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada nilai LED antara kelompok kontrol (I), kelompok yang dipapar *Candida albicans* (II) dan kelompok yang diberi ekstrak daun mimba dan dipapar *Candida albicans* (III). Nilai LED yang paling rendah yaitu pada kelompok kontrol (I) yang tidak diberi perlakuan. Hal ini dikarenakan kadar fibrinogen dalam darah organisme yang tidak terinfeksi tetap dalam jumlah normal. Keadaan ini tidak merubah muatan listrik negatif dalam darah.

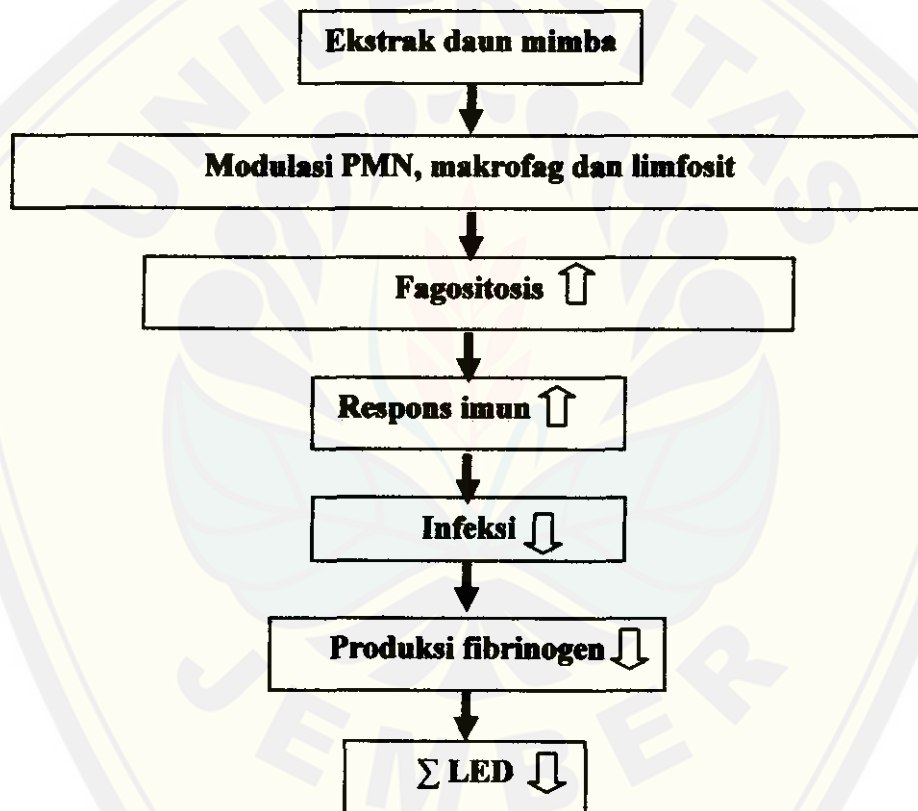
Sel-sel eritrosit yang bermuatan listrik negatif tersebut akan tolak-menolak di dalam darah sehingga tidak akan terbentuk *rouleaux*. Keadaan noninfeksi ini tidak merubah kadar fibrinogen sehingga didapatkan nilai LED yang normal.

Pada kelompok II didapatkan nilai LED yang paling tinggi, hal ini disebabkan karena pada kelompok II terjadi infeksi dari hasil injeksi *Candida albicans*. Infeksi yang terjadi pada individu tanpa pemberian ekstrak daun mimba lebih tinggi daripada kadar infeksi pada individu yang diberi ekstrak daun mimba. *Candida albicans* diketahui memiliki aktivitas immunosupresif dan dapat meningkatkan kualitas pertahanan dirinya terhadap imunitas pejamu (Fouche et al., 1987). *Candida albicans* lebih jauh lagi dapat menurunkan kadar serum Ig G dan menyebabkan diferensiasi sel *T-helper* (Dewanti, 2004). Respons imun individu yang telah menurun akan menyebabkan terjadinya infeksi pada tubuh individu tersebut. Hal ini akan menyebabkan terjadinya peningkatan proporsi fibrinogen pada darah. Peningkatan fibrinogen ini mengakibatkan sel-sel darah merah untuk bergerak saling mendekat, menumpuk satu sama lain dan berikatan membentuk *rouleaux*. Dalam keadaan demikian, sel darah merah akan menjadi lebih berat dan akan semakin cepat mengendap.

Pada kelompok III didapatkan nilai LED yang lebih rendah daripada kelompok II. Hal ini dimungkinkan karena efek immunomodulator mimba secara tidak langsung membantu menurunkan nilai LED pada kelompok III. Dewanti (2007) menyebutkan bahwa, mimba mengandung asam *Gallic*, *epicatechin* dan *catechin*, serta NB-II peptidoglikan yang berpotensi sebagai immunomodulator dan antiinflamasi. Kombinasi keempat kandungan bioaktif mimba tersebut dapat meningkatkan aktivitas seluler. Peningkatan aktivitas seluler ini akan mengaktifkan mekanisme pertahanan tubuh dan meningkatkan respons perlawanan sistem tubuh terhadap antigen. Kardiman (1999) dan Dewanti (2007) menyimpulkan bahwa aktivitas tersebut akan memodulasi PMN, makrofag dan limfosit sehingga mempengaruhi aktivitas fagositosis. Dengan adanya peningkatan respons imun ini, infeksi atau peradangan dapat dihambat sehingga peningkatan proporsi fibrinogen

dalam darah dapat ditekan. Dari pembahasan tersebut, dimungkinkan bahwa pemberian ekstrak daun mimba dapat meningkatkan respons imun, dan peningkatan respons imun ini dapat menghambat infeksi, sehingga nilai laju endap darah dapat diturunkan mendekati angka normal.

Secara sederhana mekanisme skema pengaruh ekstrak daun mimba terhadap nilai laju endap darah digambarkan pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Skema pengaruh mimba terhadap nilai LED

Dari perbandingan hasil pengamatan nilai LED dari setiap kelompok, terjadi penurunan LED sebagai hasil dari pemberian ekstrak daun mimba. Meskipun demikian, nilai LED pada kelompok III ternyata masih lebih tinggi dari kelompok I. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki kemampuan dalam

menurunkan nilai LED namun tidak dapat menormalkan nilai LED seperti halnya nilai LED pada kelompok I.

Dari pembahasan diatas, sekali lagi dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun mimba dapat memodulasi respons imun, dan peningkatan respons imun ini dapat menghambat infeksi yang terjadi pada tubuh organisme, sehingga nilai laju endap darah dapat diturunkan mendekati angka normal.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak daun mimba dapat menurunkan nilai LED pada tikus wistar jantan yang dipapar dengan *Candida albicans*, tapi tidak dapat menormalkan nilai LED.

5.2 Saran

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.
2. Perlu diinformasikan pada masyarakat bahwa daun mimba dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk meningkatkan kekebalan tubuh terhadap berbagai penyakit.

DAFTAR BACAAN

- American Association for Clinical Chemistry. 2008. *Lab-test online: ESR: the Test*. <http://www.labtestonline.org>. [24 Maret 2008]
- Anonim. 2008. *Digital Apoptosis: Candida albicans cells*. <http://www.digitalapoptosis.com>. [20 Februari 2008]
- Anonim. 2007. *Guest Medical ESR System: For Measurement of Erythrocyte Sedimentation Rate*. <http://www.guest-medical.co.uk/lab/esr>. [24 Maret 2008]
- Anonim. 2008. *Dragonmed Products: Erythrocyte Sedimentation Rate Analyzer*. <http://www.dragon-med.com/dragon-med-en/products>. [24 Maret 2008]
- Arivazhagan, S., Balasenthil, S. & Nagini, S. 2000. *Garlic and neem leaf extracts enhance hepatic glutathione and glutathione dependent enzyme during N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanine (MNNG)-induced gastric carcinogenesis in rats. Phytotherapy Research*. Pubmed On-line Journal, Juni 2000 vol. 14 Issue. 4. hal. 291-293.
- Asia Pacific Forest Genetic Resources Program (APFORGEN). 2008. *Asia Pacific Forest Genetic Resources Program (APFORGEN): Tree Species: Azadirachta Indica A. Juss.* <http://www.apforgen.org/tree>. [20 Februari 2008]
- Asnar, ETP. 2001. *Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respons Imun Mukosal Tikus yang Stress Akibat Stressor Renjatan Listrik Suatu Pendekatan Psiconeurologi. Disertasi Program Doktor, Program Pasca Sarjana*. Surabaya : Universitas Airlangga
- Badam, L., Joshi, S. P. & Bedekar, S. S. 1999. *Invitro Antiviral Activity of Neem (Azadirachta Indica A. Juss) Leaf Extract Against Group B Cocksackieviruses*. The Journal of Communicable Diseases. Juni 1999 Vol. 31 Issue. 2. hal 79 – 90.
- Baker, H.J.; Russel, J.; Steven, H.; Groth, W. 1980. *The laboratory Rats: Vol. 1. Biology and Disease*. San Diego: Academic Press Inc.

- Biswas *et al.* 2002. *Biological Activities and Medical Properties of Neem (Azadirachta Indica)*. Current Science, vol. 82 No. 11, 10 Juni 2002.
- Brigden, Malcolm L., M.D. 1999. *Clinical Utility of the Erythrocyte Sedimentation Rate*. American Academy of Family Physicians: Canada. <http://www.aafp.org>. [24 Maret 2008]
- Bunetel, Laurence & Bonnaure-Mallet, M.; 1996. *Oral Pathosis Caused by Candida albicans during Chemoteraphy; Update on Development Mechanism*. Journal of Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics. 1996 vol. 82 No. 2 hal. 161 – 165. Elsevier : St. Louis.
- Casey, Sclar D. 1994. *Neem: Mode of Action of Compounds Present in Extracts and Formulations of Azadirachta indica Seeds and Their Efficacy to Pests of Ornamental Plants and to Non-Target Species*. Colorado State University. Fort Collins : Colorado.
- Dang *et al.* 2003. *Kava root (Piper methysticum L.) as a potential natural herbicide and fungicide*. Journal crop protection. Vol. 22 Issue 6. Juli 2003 hal 837 – 881.
- Dewanti, I. D. A. Ratna, 2004. *Pemurunan Ig G serum pada tikus yang diberi konsumsi perasan Daun mimba (Azadirachta Indica Juss) dan diinokulasi C albicans*.
- Dewanti, I. D. A. Ratna. 2007. *Efek Perasan Daun Mimba (Azadirachta Indica A. Juss) Terhadap Modulasi Respon Makrofag pada Tikus Wistar yang Diinokulasi Candida albicans*. Penelitian Eksperimental Laboratoris. Usulan Disertasi. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga
- Dewanti, I. D. A. Ratna, 2003. *Daya hambat pertumbuhan C. albicans oleh perasan daun mimba (Azadirachta Indica Juss)*
- Ellis, D.H. 1994. *Clinical Microbiology the Human Opportunistic Mycoses*. Gillingham Printer : Australia
- Farah, C. S.; Hong, S.; Wanasasengsakul; Clancy, R. L. 2001. *Irradiation –induced Oral Candidiasis in an Experimental Murrine Model*. Oral Microbiology Immunology
- Fatima *et al.* 2005. *In vitro Assessment of Anti-Cutaneous Leishmaniasis Activity of Some Sudanese Plants*. Turkiye Parazitoloji Dergisi vol. 29 Issue 1 hal 3 – 6.

- Fouche, M. H.; Slabbert, J. C. G.; Coogan, M. M. 1987. *Candidal Antibodies in Patients Undergoing Treatment for Denture Stomatitis*. The Journal of Prosthetic Dentistry
- Ganguli, S. 2002. *Neem: A Therapeutic for All Seasons*. Current Science, vol. 82 No. 11, 10 Juni 2002.
- Goel, R. K. dan Sairam, K. 2002. *Anti Ulcer drugs from indigenous source with emphasis on musa sapientum, tamrabhasma, asparagus racemous and zingiber officinale*. Indian Journal of Pharmacology.
- Grainge dan Salem. 1987. *Handbook of Plant with Pest Control Properties*. John Willey and Sons : New York
- Haskell, R. dan Gayford, G. G. 1990. *Penyakit Mulut Edisi II*. Terjemahan oleh Lilian Yuwono dari *Clinical Oral Medicine (1979)*. Jakarta : EGC
- Henriette, Kress. 1991. *Henriette's plant photos: Azadirachta indica Adr. Juss.* <http://www.henriettesherbal.com>. [20 Februari 2008]
- Isbister, J. P. dan Pittligio, D. H. 1999. *Hematologi Klinik*. Alih Bahasa: Deny H. Ronardy dari *Clinical Hematology*. Jakarta: Perpustakaan Nasional
- Jawetz E, J. L Melnicle dan Adelbreg, 1996. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 20*. Terjemahan Edi Nugroho, RF Maulany dari *Medical Microbiology*. Jakarta: EGC.
- Kabat, Alan G. 2006. *Using Blood Test and Urinalysis to Assess Systemic Condition with Ocular Consequences*. Florida: Nova Southeastern University. <http://www.opc.pacificu.edu>. [24 Maret 2008]
- Kardiman. 1999. *Pestisida Hayati: Ramuan dan Aplikasi*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Langlais, R. P. dan Miller, C. S. 1998. *Atlas Berwarna Kelainan Rongga Mulut yang Lazim*. Terjemahan Budi Susetyo dari *Colour Atlas of Common Oral Disease*. Jakarta : Hipokrates.
- Leeson, C. Roland, Thomas S. Leeson dan Anthony A. Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Penerjemah S. Koesparto Siswojo dkk, Penyunting Jan Tambajong dan Sugito W. Judul asli: *Textbook of Histologi*. Jakarta : EGC.
- Lynch, M. A.; Brightman, V. J.; Greenberg, M. S. 1993. *Ilmu Penyakit Mulut*. Terjemahan Sianita Kurniawan. Jakarta : Bina Aksara

- Mirin, 1997. *Pengujian Kemampuan Beberapa pengisida Nabati untuk Pengendalian Penyakit Layu Furasium pada Tomat*. Jurnal Agrista Vol. 1 No. 2. Universitas Syah Kuala.
- Nonderson, N. J. 2002. *Health A to Z: Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR)*. Ontario: Ontario Association of Medical Disease
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. Edisi revisi. Jakarta: Penerbit Rineka Pustaka.
- Pangabdian, Fani. 2007. *Pengaruh Pemberian Virgin Coconut Oil (VCO) terhadap Laju Endap Darah (LED) Pada Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Staphylococcus aureus*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Skripsi
- Parnaadji, R. R., 1999. *Pengaruh Konsentrasi Larutan baking soda dan Lama Perendaman sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan Resin Akrilik terhadap Jumlah Koloni Candida albicans*. Tesis. Pascasarjana, Surabaya : Universitas Airlangga.
- Pizzorno dan Murray. 1992. *Textbook of Natural Medicine*. Philadelphia: W.B. Saunders Company
- Putra, M., 2001. *Isolasi Candida Albicans dan Uji Kerentanan Obat Anti Jamur*. Majalah Kedokteran Gigi (Dent. J) 078 ES. Surabaya: FKG UNAIR.
- Rahayu, S. 1999. *Efektivitas Ekstrak Daun Mimba dan Daun Sirih Terhadap Perkembangan Antraknosa (Gleosporium piperatum Ell. Et. Ev)*. Fakultas Pertanian Universitas Jember. Skripsi
- Ray, Barnerjee B. D. 1996. *Modulation of Humoral and cell-mediated immune responses by Azadirachta Indica (Neem) in Mice*. Indian Jural Exp biology. Juli 34(7)
- Riana, C., 2006. *Karakteristik Candida albicans*. Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi. FK Universitas Indonesia : Jakarta
- Rippon JW. 1998. *Medical Mycology*. WB Saunders Co. Philadelphia.
- Rostiny, 1996. *Kekasaran Permukaan dan Perlekatan Candida albicans pada Basis Resin Akrilik Heat Cured dan Resin Visible Light Cured*. Majalah Kedokteran Gigi 29 (4). Surabaya : FKG UNAIR.

- Saadah, Constantine. 1998. *The Erythrocyte Sedimentation Rate: Old and New Clinical Application*. Southern Medical Journal. Vol Maret 1998.
- Sairam; Havazhagan, G.; Kumar, D; Selavamurthy, W. 1997. *Immunomodulatory Effect of NIM-76, a Volatile Fraction from Neem Oil*. Journal of Ethnopharmacology.
- Sastrodiharjo, S. 1998. *Evaluasi Daya Insektisida dari Ekstrak Daun Mimba (Azadirachta Indica A. Juss)*. Seminar Hasil Penelitian Pangan dan Gizi. Ilmu Hayati: Jakarta
- Steel, R. G. D. & Torrie, James H. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta : P.T. Gramedia Pustaka Utama
- Sukrasno, 2003. *Mimba Tanaman Obat Multifungsi*. Jakarta : Agromedia Pustaka
- Sukanton, 2003. *Pertumbuhan Candida albicans pada Plat Akrilik Setelah Direndam Glutaraldehyde 10%*. Majalah Kedokteran Gigi 36 (3a). Surabaya: FKG UNAIR.
- Suryaningsih, Ade. 2006. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Tanaman Meniran (Phyllanthus niruri) Terhadap Jumlah Limfosit Darah Tepi Tikus Wistar Jantan yang Dipapar Stressor Rasa Sakit*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Skripsi
- Talwar, Shah S.; Muhkrejee, S.; Chabra, R. 1997. *Induced Termination of Pregnancy by Purified Extract of Azadirachta Indica (Neem): Mechanism Involved*. American Journal of Reproduction Immunology. Juni vol 37(6)
- Upadhayay, Dhawan S.; Garg, S.; Talwar. 1992. *Immunomodulation Effect of Neem (Azadirachta Indica) oil*. International Journal of Immunopharmacology. Oktober 14(7)
- Wikimedia Foundation. 2008. *Encyclopedia: Wistar Rat*. http://www.wikipedia.cbn/wiki/wistar_rat. [24 Maret 2008]
- Wikimedia Foundation. 2008. *Erythrocyte Sedimentation Rate*. http://en.wikipedia.org/wiki/Erythrocyte_sedimentation_rate. [24 Maret 2008]
- Wikimedia Foundation. 2008. *Rattus Novergicus: Integrated Taxonomic Information Sistem*. http://www.wikipedia.com/Rat/Rattus_novergicus. [24 Maret 2008]