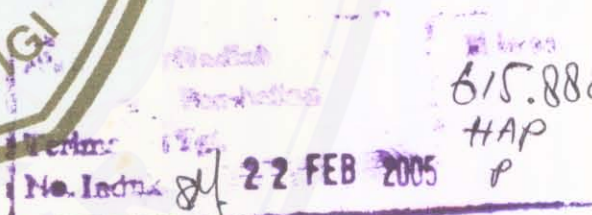


**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN MENKUDU 100 %  
(*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP JUMLAH PMN JARINGAN  
GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN YANG  
DIPAPAR *Candida albicans*  
(Penelitian Eksperimental Laboratoris)**

**KARYA TULIS ILMIAH  
(SKRIPSI)**



Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana  
Kedokteran Gigi Pada Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember



Dosen Pembimbing Utama :  
**drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si**

Dosen Pembimbing Anggota :  
**drg. Erna Sulistyani, M.Kes**

Oleh :

**Efna Wahyu Hapsari**  
**991610101004**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2005**

**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN MENGGUDU 100%  
(*Morinda citrifolia L.*) TERHADAP JUMLAH PMN JARINGAN  
GINGIVA TIKUS WISTAR JANTAN YANG  
DIPAPAR *Candida albicans***

(Penelitian Eksperimental laboratoris)

Karya Tulis Ilmiah  
(Skripsi)

Diajukan Sebagai Salah Satu Untuk Meraih  
Gelara Sarjana Kedokteran Gigi Pada  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

Oleh

**Efna Wahyu Hapsari**  
**991610101004**

Dosen Pembimbing Utama



**drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si.**  
**NIP. 132 162 516**

Dosen Pembimbing Anggota




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

Diterima Oleh :  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Sebagai Karya Tulis Ilmiah (Skripsi)


Dipertahankan pada :  
Hari : Sabtu  
Tanggal : 24 juli 2004  
Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji :


Ketua

  
drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si.  
NIP. 132 162 516

Sekretaris

  
drg. Izzata Barid, M.Kes.  
NIP. 132 162 520

Anggota

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

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember



  
drg. Zahren Hamzah, M.S.  
NIP.131 558 576

**MOTTO**

*“Allah akan menjadikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan”. (QS. Al-Mujadilah : 11)*

*“ Muliakanlah orang-orang yang telah memberikan pelajaran kepadamu”.*

*(HR. Abd. Hasan Mawardi)*

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمُ لِلنَّاسِ

*“Sebaik-baik manusia adalah yang memberikan manfaat bagi orang lain.” (Al-Hadits)*

*Ambisi adalah Seperti Air Laut, Semakin Banyak Orang Meminumnya Semakin Orang Menjadi Haus. (Robert Van Houtman)*

## PERSEMBAHAN

**Kupersembahkan Karya Tulis Ilmiah ini Kepada :**

*Allah SWT.*

atas semua yang telah Engkau limpahkan kepada hambamu yang hina ini.

(UMAR EFFENDIE & ERNA ROSNAINI, Bsc.)

*Papa dan Mama tercinta, terimakasih untuk semua kasih sayangmu. Ananda yakin tanpa diminta doa panjang khususmu dengan linangan air mata kasih selalu untuk Ananda dan restumu adalah anugerah terindah dimanapun dan sampai kapanpun.*

*Terima kasih untuk semua yang kalian berikan. Ananda percaya untaian doa dan rangkaian motivasi itu takkan berakhir dan Ananda bersyukur punya kalian.*

(Erdi Yudhistira / Ucuetz)

**Abangku tersayang yang selalu memberikan semangat disaat Adikmu satu-satunya terpuruk sehingga dapat bangkit kembali untuk meraih keberhasilanku.**

*Seseorang yang membagi satu tulang rusuknya dan dikirim oleh Allah untukku. Tak perlu kau intip saat ucap doa terindah dengan segenap ketulusan demi ridho-Nya.*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Perasan Mengkudu 100% (*Morinda citrifolia L.*) Terhadap Jumlah PMN Jaringan Gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar *Candida albicans*” ini dapat terselesaikan dengan baik. Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini diselesaikan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada:

1. **drg. Zahreni Hamzah, M.S.** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
2. **drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si.** selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah bersabar memberikan bimbingan dan masukan serta dukungan sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. **drg. Erna Sulistyani, M.Kes.** selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak memberikan bimbingan dan masukan sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. **drg. Izzata Barid, M.Kes.** selaku sekretaris penguji yang telah memberikan pengarahan dan petunjuk dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah.
5. Laboratorium Biomedik (Laboratorium Fisiologi, Histologi dan Mikrobiologi) terutama kepada **Mas Agus, Mas Bagus, Pak Pinardi, Mbak Wahyu, Mas Yuli dan Pak Sis** yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penyelesaian penelitian ini.
6. Klrng Besarku tercinta: **Papa dan Mama, Abangku** Ucuetz, Makwo Mar, Pakwo Gun (alm), Pakngah Wanto, Makngah Na, Pakngah Wani, Makngah Minah, Pakngah Man, Pakcik Riswan, Pakcik Pani, Pakcik Jayut, Teh Dewi, Teh Anggra, Su Tika, Cu Iwan, Sepupuku Aa' Fera, Bang Heru, Adek Dian, Dani, Febi, Ari, Yoga, Dirja, Dena, Ivel, Nanda, Klrng B.Marzuki dan Romli.

7. Keluarga Besar Kasiady terima kasih atas semangat dan kasih sayangnya.
8. Teman satu tim : Agus Ertanto, Imam Mashuda dan Putu Rany Saonekawati terima kasih atas semua semangat, bantuan dan kerjasamanya.
9. Teman-teman Kalimantan VI/3: Mbak Susi, Mbak Evi atas nasehat, semangat dan kesabarannya, Mella, Safti, Atin, Rifa, Yessi, Ika, Younissa, Mita, Unun, Nita, Anik, Diana, Indah, Lukita dan Beta.
10. Sahabatku tersayang: Muhammad Riyadi, Arif Rachman, Desi Ardina, Anggraini, Eni dan Sunaini.
11. Semua **Angkatan'99 (PRODIGI)** yang tak mungkin kusebutkan semua, semoga tetap kompak selalu.
12. Crew OSAKA com.rent. (Mas Ebied, Mas Ifien, dan Mas Armand) yang telah membantu kelancaran penyusunan Karya Tulis Ilmiah (skripsi) ini.
13. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Pada kesempatan ini penulis juga ingin menyampaikan bahwa penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak kekurangan yang perlu disempurnakan. Oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun selalu terbuka demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhir kata, semoga penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, Maret 2005

Penulis

**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>RINGKASAN</b> .....	xiv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Buah Mengkudu.....	4
2.1.1 Taksonomi Tanaman Mengkudu.....	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Mengkudu.....	6
2.1.3 Kandungan Buah Mengkudu.....	7
2.1.4 Sifat dan Khasiat .....	10
2.2 <i>Candida albicans</i> .....	11
2.2.1 Definisi <i>Candida albicans</i> .....	11
2.2.2 Morfologi dan Identifikasi.....	13
2.2.3 Patogenesis dan Patologi.....	14



2.2.4 Gambaran Klinik .....	15
2.3 <i>Polymorfonuclear</i> (PMN) .....	17
2.3.1 Definisi <i>Polymorfonuclear</i> (PMN) .....	17
2.3.2 Neutrofil .....	18
2.5 Mengkudu dan Kandidiasis .....	22
2.6 Hipotesa.....	24
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>25</b>
3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
3.1.1 Jenis Penelitian .....	25
3.1.2 Tempat Penelitian.....	25
3.1.3 Waktu Penelitian .....	25
3.2 Variabel Penelitian.....	25
3.2.1 Variabel Bebas.....	25
3.2.2 Variabel Terikat.....	25
3.2.3 Variabel Terkendali.....	25
3.3 Definisi Operasional .....	25
3.4. Populasi Penelitian .....	26
3.5 Unit Analisis Penelitian .....	26
3.6 Besar dan Kriteria Sampel.....	26
3.6.1 Besar Sampel.....	26
3.6.2 Kriteria Sampel.....	26
3.7 Alat dan Bahan Penelitian .....	27
3.7.1 Alat Penelitian .....	27
3.7.2 Bahan Penelitian.....	27
3.8 Rumus Konversi Manusia ke Tikus.....	27
3.9 Prosedur Penelitian.....	28
3.9.1 Tahap Persiapan .....	28
3.9.2 Tahap Pengelompokan Subyek.....	28
3.9.3 Tahap Pemberian Perasan Mengkudu.....	28
3.9.4 Tahap Pemberian <i>Candida albicans</i> .....	29

3.9.5 Tahap Preparasi Jaringan.....	29
3.9.6 Tahap Pembuatan Sediaan .....	29
3.9.7 Tahap Pengecatan HE .....	29
3.9.8 Tahap Penghitungan Jumlah PMN.....	29
3.10 Alur Penelitian.....	30
3.11 Analisa Data .....	30
<b>IV. HASIL DAN ANALISA DATA .....</b>	<b>31</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	31
4.2 Analisa Data dan Hasil penelitian.....	35
<b>V. PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
<b>VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>41</b>
6.1 Kesimpulan.....	41
6.2 Saran.....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN .....</b>	<b>46</b>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Garis besar efek-efek farmakologis yang bermanfaat dari buah mengkudu.....	8
Tabel 2.	Kandungan dan fungsi mengkudu, bahan-bahan yang terdapat dalam mengkudu.....	9
Tabel 3.	Jumlah PMN Setelah Perlakuan Selama 10 hari.....	31
Tabel 4.	Hasil Uji Homogenitas Kelompok Perlakuan dan Kelompok kontrol.....	35
Tabel 5.	Hasil uji Anova satu arah pada kelompok kontrol dan perlakuan.....	35
Tabel 6.	Uji LSD Pada Ketiga Kelompok Perlakuan Terhadap Jumlah PMN.....	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bentuk Leukosit Neutrofil.....	20
Gambar 2. Foto sediaan jaringan gingiva tikus Wistar jantan pada kelompok yang tidak diberi perlakuan (kontrol) pembesaran 400x per lapang pandang.....	32
Gambar 3. Foto sediaan jaringan gingiva tikus Wistar jantan pada kelompok yang dipapar <i>Candida albicans</i> pembesaran 400x per lapang pandang.....	32
Gambar 4. Foto sediaan jaringan gingiva tikus Wistar jantan pada kelompok yang diberi perasan mengkudu dan dipapar <i>Candida albicans</i> pembesaran 400x per lapang pandang.....	33
Gambar 5. Diagram Batang dari Rata-rata Jumlah PMN.....	34
Gambar 6. Diagram Batang Jumlah PMN Pada Ketiga Kelompok Perlakuan.....	34
Gambar 7. Hubungan komponen humoral dan elemen seluler di dalam air liur, cairan celah gusi dan cairan rongga mulut.....	38
Gambar 8. Foto Mikrotom.....	52
Gambar 9. Foto Inkubator.....	52
Gambar 10. Foto Alat Penelitian.....	53
Gambar 11. Sampel Penelitian (tikus Wistar jantan).....	54
Gambar 12. Foto Buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia L.</i> ).....	54
Gambar 13. Foto Bahan Penelitian.....	55

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Tahap Pembuatan Sediaan.....	46
Lampiran 2. Tahap Pengecatan.....	48
Lampiran 3. Makanan Standart Tikus.....	49
Lampiran 4. Penghitungan Besar Sampel.....	50
Lampiran 5. Foto Alat Penelitian.....	52
Lampiran 6. Foto Bahan Penelitian.....	54
Lampiran 7. Penghitungan Dosis Konversi Mengkudu.....	56
Lampiran 8. Jumlah PMN per lapang pandang.....	57
Lampiran 9. Hasil Uji Anova satu arah dan Uji LSD.....	58

## RINGKASAN

EFNA WAHYU HAPSARI, 991610101004, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, "Pengaruh Pemberian Perasan Mengkudu 100% (*Morinda citrifolia L.*) Terhadap Jumlah PMN Jaringan Gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar *Candida albicans*" (Eksperimental Laboratoris). Di bawah bimbingan drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si. (DPU), drg. Erna Sulistyani, M.Kes. (DPA).

Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) sudah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional namun hal ini hanya berdasarkan pengalaman empirik masyarakat bukan berdasarkan kajian ilmiah. Salah satu penggunaan mengkudu pada masyarakat adalah sebagai obat sariawan yang disebabkan oleh jamur. Sampai saat ini belum ditemukan pengobatan yang adekuat terhadap infeksi *Candida albicans*. Pada proses peradangan fase selular awal, sel pertama yang secara kimia tertarik ke daerah radang adalah PMN. PMN berfungsi memfagosit agen yang masuk ke dalam jaringan tubuh.

Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) mengandung zat yang akan membantu memperbaiki dan mengaktifkan fungsi kelenjar tiroid dan kelenjar timus yang penting untuk kekebalan tubuh dalam proses penyembuhan. Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan pengaruh pemberian perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) 100% terhadap jumlah PMN pada jaringan gingiva tikus Wistar jantan. Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah bagi masyarakat dan tenaga medis tentang manfaat perasan mengkudu untuk mengatasi infeksi jamur dalam upaya meningkatkan kesehatan gigi dan mulut pada kehidupan sehari-hari.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan menggunakan besar sampel 5 ekor tikus Wistar jantan. Penelitian ini dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (diberi makan dan minum), kontrol positif (tidak diberi perasan mengkudu per oral dan dipapar *Candida albicans*) dan perlakuan (diberi perasan mengkudu dan dipapar *Candida albicans*). Kemudian selama 10 hari berturut-turut diberi perlakuan, selanjutnya dilakukan pengambilan jaringan gingiva tikus untuk dibuat hapusan dan menghitung jumlah PMN di bawah mikroskop. Data dari penelitian diuji dengan uji statistik ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji LSD.

Berdasarkan hasil uji statistik ANOVA satu arah dan LSD menunjukkan bahwa rata-rata jumlah PMN pada kelompok kontrol negatif adalah 3,83, sedang pada kelompok perlakuan 4,85 dan pada kelompok kontrol positif 5,44. Rata-rata jumlah PMN menunjukkan adanya penurunan jumlah PMN pada kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan mengkudu dapat berperan sebagai adaptogenik yang menyeimbangkan fungsi sel-sel tubuh. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan yang signifikan (nyata) antara ketiga kelompok yang diberi perasan mengkudu dalam menurunkan jumlah sel PMN pada jaringan gingiva tikus Wistar jantan yang dipapar *Candida albicans*.



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Jamur *Candida albicans* merupakan jamur oportunistik yang biasanya tidak patogen pada manusia sehat tetapi dapat bersifat sebagai organisme virulen. Jamur ini sangat berbahaya pada keadaan host dengan fungsi yang terganggu, seperti pada neonatus, pasien keganasan limforetikuler, pasien dengan pengobatan immunosupresif, diabetes mellitus dan penggunaan antibiotik berspektrum luas. Infeksi jamur pada membran mukosa yang disebabkan oleh *Candida albicans* antara lain sariawan dan vaginitis (Bellanti, 1993 : 18).

Pada keadaan host terganggu oleh *Candida albicans* aktivasi komplemen yang mempunyai efek kemotaktik akan menarik PMN untuk memfagosit antigen jamur (Roeslan, 2002 : 135). Pada proses peradangan fase seluler awal, sel pertama yang secara kimia tertarik ke daerah radang adalah PMN (Yuwono, 2001 : 5). PMN berfungsi memfagosit agen yang masuk ke dalam jaringan tubuh. Dalam sirkulasi sekitar 12 jam PMN masuk ke dalam jaringan dimana mereka menyelesaikan jangka hidupnya dalam beberapa hari (Bellanti, 1993 : 24). Sampai saat ini belum ditemukan pengobatan yang adekuat terhadap infeksi *Candida albicans*. Terjadinya keadaan host imun terganggu yang berubah-ubah menjadikan penyakit ini menarik untuk dipelajari (Lehner, 1995 : 119).

Masyarakat sering menggunakan perasan mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) sebagai obat alternatif sariawan dan vaginitis yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*; Selain kegunaan lainnya sebagai obat cacing, kudis, malaria, menghilangkan hawa lembab pada tubuh, meningkatkan kekuatan tulang, pembersih darah, peluruh kencing, obat batuk dan antiseptik (Purbaya, 2002 : 40). Pemanfaatan mengkudu selama ini didasarkan atas pengalaman empirik masyarakat, dan masih menyisakan banyak topik yang menarik untuk dikaji lebih lanjut secara ilmiah.

Menurut Toni Masruri (Masruri, 2002 : 31) terjadi penurunan jumlah PMN mencit dari keadaan yang tanpa terapi mengkudu dengan keadaan mencit yang

sudah diterapi mengkudu pada proses penyembuhan luka. Penurunan ini mungkin disebabkan oleh karena masa paruh PMN yang singkat tidak akan melampaui umur 24-48 jam atau mungkin oleh karena aktivitas fagositosis makrofag (Robin dan Kumar, 1992 : 29). Peran penting PMN dalam mengontrol peridontopatogen terlihat pada saat kelainan periodontal yang berat fungsi PMN menurun (Roeslan, 2002 : 135).

Mengkudu juga diketahui mengandung *xeronine* dan *scopoletin* yang akan membantu memperbaiki dan mengaktifkan fungsi kelenjar tiroid dan kelenjar timus yang penting untuk kekebalan tubuh dalam proses penyembuhan (Sjabana, 2002 : 16). *Xeronine* dihasilkan ketika asam lambung yang sedang mencerna termasuk jus buah mengkudu menghancurkan *proxeronine* sampai menjadi *xeronine* (Roeslan, 2002 : 135).

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka penulis ingin melakukan penelitian untuk membuktikan dan mengukur sejauh mana pengaruh pemberian perasan mengkudu terhadap jumlah PMN pada jaringan gingiva dengan menggunakan hewan coba tikus Wistar jantan yang dipapar *Candida albicans*. Jumlah PMN diukur dari sediaan hapusan jaringan gingiva tikus Wistar jantan yang dipapar *Candida albicans*. Selanjutnya data yang diperoleh dianalisa dengan uji *Anova One Way Test* dengan  $\alpha = 5\%$  dan dilanjutkan dengan uji LSD.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah tersebut di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

Apakah pemberian perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) intragastrik dapat menurunkan jumlah PMN pada jaringan gingiva tikus Wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* per oral ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pemberian perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) intragastrik dapat menurunkan jumlah PMN pada jaringan gingiva tikus Wistar jantan yang dipapar *Candida albicans*.



### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membandingkan jumlah PMN pada sediaan jaringan gingiva tikus Wistar antara kelompok perlakuan (diberi perasan mengkudu 100% intragastrik dan dipapar *Candida albicans*) dengan kelompok kontrol positif (dipapar *Candida albicans*).
2. Membandingkan jumlah PMN pada sediaan jaringan gingiva tikus Wistar antara kelompok kontrol positif (dipapar *Candida albicans*) dengan kelompok kontrol negatif (kontrol).
3. Membandingkan jumlah PMN pada sediaan jaringan gingiva tikus Wistar antara kelompok yang diberi perasan mengkudu 100% intragastrik dan dipapar *Candida albicans* (perlakuan) dengan kelompok yang tidak diberi perasan mengkudu 100% dan tidak dipapar *Candida albicans* (kontrol negatif).

### 1.4 Manfaat

Dengan melihat adanya perubahan efek pemberian perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) intragastrik diharapkan dapat :

1. Memberikan informasi ilmiah bagi masyarakat dan tenaga medis tentang manfaat perasan mengkudu untuk mengatasi infeksi jamur dalam upaya meningkatkan kesehatan gigi dan mulut pada kehidupan sehari-hari.
2. Berguna sebagai salah satu dasar acuan untuk penelitian lebih lanjut tentang mengkudu (*Morinda citrifolia L.*).



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Tanaman mengkudu telah dikenal sejak ribuan tahun yang silam, di semua benua di dunia. Seorang ilmuwan Inggris, H.B. Guppy (1900), menyatakan bahwa sekitar 60% dari spesies mengkudu tersebar di Malaysia dan di semua kepulauan lautan Indonesia dan Pasifik. Berdasarkan dari indikator tersebut dapat diketahui bahwa tanaman mengkudu berasal dari daerah tropis di kawasan Asia. Indonesia mempunyai lebih dari 1.000 jenis tanaman obat yang tersebar di berbagai daerah, yang bermanfaat sebagai bahan baku obat modern dan tradisional serta minuman dan makanan kesehatan.

Mengkudu atau pace merupakan tanaman obat yang cukup dikenal oleh masyarakat Indonesia, hal ini terbukti dengan adanya sebutan tersendiri untuk tanaman ini dari berbagai daerah di Indonesia (Sjabana, 2002 : 4). Nama daerah dari mengkudu atau pace:

1. Sumatera: bangkudu, bengkudu, pamarai (Batak), Neteu (Mentawai), makudu (Nias), lengkuas (Gayo), keumudee (Aceh), eodu, eoru (Enggano), bengkudu (Minangkabau), mekudu (Lampung).
  2. Jawa: kudu, cangkudu, (Sunda), pace, kemudu (Jawa), kodhuk (Madura).
  3. Nusa Tenggara: tibah, wungkudu (Bali), ai kombo (Sumba), manakudu (Roti).
  4. Kalimantan: mangkudu, wangkudu, labanau, rewonong (Dayak).
- (Wijayakusuma, 2001 : 13).

Mengkudu dikenal sebagai pengobatan sejak 2000 tahun yang lalu, bukan hanya di Indonesia tetapi juga di Polynesia, Tiongkok, India, Eropa dan sejumlah negara lainnya (Purbaya, 2002 : 40). Nama asing dari mengkudu atau pace:

1. Tiongkok : hai ba ji, xi shu.
2. Inggris : *indian mulberry*.
3. Filipina : bankoro, bankuru.

Mengkudu banyak ditanam sebagai tumbuhan liar ditemukan di pantai, ladang, ataupun tanaman di pekarangan sebagai sayur ataupun tanaman obat

karena mempunyai banyak kegunaan dari setiap bagian tanamannya. Misalnya kulit akarnya mengandung zat warna merah yang dipakai untuk memberi warna pada kain batik ataupun anyaman yang terbuat dari pandan, buah mengkudu yang setengah matang biasa digunakan sebagai rujak, sementara buahnya yang matang dipergunakan sebagai obat tradisional yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit misalnya untuk mengatasi ketidakseimbangan bakteri dan jamur pada rongga mulut manusia, serta mengatasi berbagai peradangan dalam tubuh.

Selain itu buah yang matang dapat dipergunakan untuk membersihkan karat pada logam ataupun digunakan sebagai pengganti shampo untuk mengobati ketombe. Umumnya dan mengkudu atau pace sering dipakai untuk membungkus pindang ikan, tidak jarang daunnya digunakan sebagai lalap setelah direbus atau dikukus. Tanaman mengkudu atau pace atau buah noni dapat diperbanyak melalui biji (Wijayakusuma, 2001 : 12-14). Tanaman mengkudu mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan secara agribisnis. Buah mengkudu telah dimanfaatkan sebagai bahan baku industri minuman. Di Amerika dan Eropa serta Asia buah mengkudu diolah menjadi minuman kesehatan sekaligus obat alami dan juga bahan baku industri farmasi (Rukmana, 2002 : 16).

### 2.1.1 Taksonomi Tanaman Mengkudu

Mengkudu adalah jenis tumbuhan dari keluarga kopi-kopian (*Rubiaceae*), yang sama seperti misalnya tumbuhan: kopi, soka, kacapiring, termasuk pohon kina. Nama ilmiah atau latinnya adalah *Morinda citrifolia* L. (Purbaya, 2002 : 19). Marga (genus) *Morinda* meliputi sekitar 50 hingga 80 spesies. Carolus Linneaus, seorang ahli klasifikasi tanaman, mengklasifikasi mengkudu sebagai berikut:

- Divisi : *Spermatophyta* (Tumbuhan berbiji tingkat tinggi karena berbiji dan berbunga)
- Sub divisi : *Angiospermae* (Tumbuhan biji tertutup)
- Kelas : *dicotyledone*
- Anak kelas : *Sympatae*
- Bangsa : *Rubiales*

Suku : *Rubiaceae*  
Marga/genus : *Morinda*  
Jenis/spesies : *Morinda citrifolia L.*

Sumber lain mengklasifikasikan sebagai berikut: *Eukaryota, Viridiplantae, Streptophyta, Embryophyta, Tracheophyta, Spermatophyta, Magnoliophyta, eudicotyledons, core eudicots, Asteridae, eusterids I, Gentianales, Rubiaceae, Morindae, Morinda citrifolia*. Mengkudu juga dinamai sebagai *Indian mulberry* atau *awl tree*. Penulisan ilmiah akar mengkudu disebut dengan *Morinda citrifolia Radix*, daun mengkudu disebut dengan *Morinda citrifolia Folium* dan buah mengkudu disebut dengan *Morindae citrifolia Fructus* (Sjabana, 2002 : 6).

### 2.1.2 Morfologi Tanaman Mengkudu

Tanaman mengkudu merupakan tanaman tahunan (*perennial*) yang berbentuk perdu tumbuh membengkok (Rukmana, 2002 : 18). Tanaman mengkudu memiliki ketinggian 5-8 meter dan mempunyai cabang atau ranting-ranting pohon yang banyak. Batang pohonnya berkayu, bulat berkulit kasar dan kulit kayunya berwarna coklat kekuningan atau ada pula yang warnanya agak keputih-putihan terutama yang batang kayunya kecil-kecil (Purbaya, 2002 : 19).

Daun tanaman termasuk daun tunggal, terdiri atas satu helai daun pada setiap satu tangkai daun (*petiolus*) (Rukmana, 2002 : 18). Letak daun berhadapan secara bersilang, bertangkai dengan bentuk daun yang bulat telur melebar menyerupai bentuk elips atau oval dengan panjang daun 10-14 cm, lebar daun 5-17 cm tebal dan terlihat mengkilap (Wijayakusuma, 2001 : 12). Permukaan daun bagian atasnya berwarna hijau mengkilap, sedangkan permukaan bagian bawah berwarna hijau agak pucat, tangkai daun pendek dan melekat pada batang atau cabang secara bersejang-seling atau berpasangan. Daun tampak rimbun, semakin subur pertumbuhan tanaman semakin besar ukuran daunnya (Rukmana, 2002 : 19).

Tanaman mengkudu berbunga sempurna (*hermaphrodite*) dan menghasilkan buah semu majemuk (Rukmana, 2002 : 19). Mengkudu memiliki

bunga berwarna putih, majemuk, bentuk bongkol, bertangkai, diketiak daun, benang sari lima, berbau harum, melekat pada tabung mahkota, tangkai sari berambut, tangkai bakal buah panjang 3-5 cm, hijau kekuningan, panjang sekitar 1 cm (Sjabana, 2002 : 7).

Buah mengkudu mempunyai bentuk yang bervariasi (agak bulat, agak lonjong, atau panjang) dengan permukaan yang tidak rata (Rukmana, 2002 : 19). Buah mengkudu berbongkol permukaan tidak teratur, berdaging, panjang 5-10 cm, buah muda berwarna hijau, semakin tua menjadi kekuningan hingga putih transparan, daging buah berbau tidak sedap (di Australia dikatakan seperti bau keju biru) akibatnya bau agak busuk dari *caproic acid* dan *capric acid*, juga akibat penguraian protein oleh bakteri pembusuk menjadi senyawa aldehida atau keton. Biji mengkudu berbentuk segitiga, keras berwarna coklat kemerahan. Akar mengkudu berwarna coklat muda dan berjenis tunggang (Sjabana, 2002 : 7).

Di alam ditemukan dua jenis mengkudu, didasarkan pada struktur buahnya, yaitu jenis mengkudu berbiji (mengandung banyak biji) dan jenis mengkudu tanpa biji. Buah mengkudu yang tidak berbiji lebih dikenal sebagai pace sukun. Dalam penelitian ini menggunakan jenis buah mengkudu berbiji yang pada umumnya digunakan sebagai tanaman obat dan mudah didapatkan (Rukmana, 2002 : 19).

### 2.1.3 Kandungan Buah Mengkudu

Buah mengkudu mengandung *alkaloid triterpenoid, scopoletin, acubin, alirazin, antrakuinon, asam benzoat, asam oleat, asam palmitat, glukosa, eugenol, hexanal* (Wijayakusuma, 1996 : 26). *Alkaloid* adalah suatu senyawa aktif yang terdapat dalam buah-buahan. *Alkaloid* yang dihasilkan oleh buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dinamakan *xeronine*. *Alkaloid* ini berguna untuk mengaktifkan enzim-enzim dan mengatur pembentukan protein. *Xeronine* dibentuk oleh suatu zat yang dinamakan *proxeronine*. Persediaan *proxeronine* disimpan di dalam hati dan otak memberi sinyal untuk melepaskan persediaan *proxeronine* yang kemudian diserap oleh organ tubuh dan dirubah menjadi *xeronine*. *Xeronine* ini dihasilkan ketika asam lambung yang sedang mencerna

buah mengkudu menghancurkan *proxeronine* sampai menjadi *xeronine*. Dr. Heinicke mengatakan bahwa *xeronine* sebagai pengatur spesifik keutuhan protein. Tanpa *xeronine* protein dalam tubuh akan rusak. Selain itu Dr. Mona Harrison mengatakan bahwa buah mengkudu dengan kandungan *xeronine* akan membantu memperbaiki fungsi kelenjar tiroid dan kelenjar timus, yang penting untuk kekebalan tubuh (Sjabana, 2002 : 16).

*Senyawa terpenoid* merupakan senyawa karbon isomerik yang berfungsi membantu tubuh untuk proses sintesa organik dan pemulihan sel-sel tubuh. *Acubin*, *alizarin* dan beberapa zat *antrakuinon* sebagai zat antibakteri, anti radang dan anti alergi. *Scopoletin* ( $C_{10}H_8O_4$ ) adalah suatu zat pertumbuhan nabati yang pertama kali ditemukan pada tanaman. Zat *hidroksi-metoksi-kumarin* ini membawa serta *serotonin* yang berfungsi sebagai neurotransmitter dalam otak untuk mengantarkan sinyal saraf. Zat ini juga berfungsi sebagai anti inflamasi (Anonim, 2002 : 2). *Asam benzoat* berfungsi untuk fungistatik. Sedangkan *eugenol* berfungsi untuk preparat analgesik denta (FKUI, 1995 : 142).

**Tabel 1. Garis besar efek-efek farmakologis yang bermanfaat dari buah mengkudu.**

EFEK	MEKANISME
1. immunomodulasi <sup>9</sup>	Induksi dari berbagai polisakarida dan peran <i>nitric oxide</i>
2. reparasi dan peremajaan sel	Peran sistem <i>xeronine</i> dan berbagai zat nutrisi
3. vasoproteksi <sup>10</sup>	Beragam efek-efek dari <i>scopoletin</i> dan <i>nitric oxide</i>
4. antioksidan	<i>Scopoletin</i> , <i>nitric oxide</i> , vitamin C dan vitamin A
5. hepatoproteksi	<i>Scopoletin</i>
6. antibiotika, antijamur	Efek langsung dan efek tidak langsung melalui efek immunomodulasi

<sup>9</sup> mengubah status kekebalan (imun) tubuh menjadi lebih baik, dapat meningkatkan atau menurunkan.

<sup>10</sup> efek-efek perlindungan terhadap kualitas pembuluh darah (Sjabana, 2002 : 45).

**Tabel 2. Kandungan dan Fungsinya. Bahan-Bahan Yang Terdapat Dalam Mengkudu**

Zat terkandung	Khasiat/Manfaat
<i>Metil Etil ester</i>	Mematikan kuman
<i>Moridon</i>	Melancarkan buang air besar
<i>Soranjidiol</i>	Melancarkan keluarnya air seni
Analgesik	Pereda rasa sakit
Sedatif	Penegang saraf
<i>Damnakantal</i>	Menumpas sel kanker dan meningkatkan daya tahan tubuh
<i>Anthraquinone dan Scopoletin</i>	Mengatasi radang dan alergi
<i>Terpenes</i>	Meremajakan sel-sel tubuh
<i>Xeronine</i>	Mengaktifkan kelenjar tiroid dan timus
<i>Proxeronine</i>	Menyelaraskan kerja sel dalam tubuh
Hipokolestemik	Menurunkan kadar kolesterol darah

Sumber : Anonim (2002 : 3).

Mengkudu dengan kandungannya *anthraquinon* dan *scopoletin* dapat berfungsi sebagai anti jamur misalnya mengatasi infeksi *Candida albicans* yang terjadi di dalam tubuh dengan sifat antiseptiknya yaitu membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme agar tidak terjadi infeksi yang berkepanjangan. Menurut FK UNSRI (1994 : 76) antiseptik adalah zat-zat yang membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme sedangkan menurut Djahhuri (1995 : 24) antiseptik adalah obat yang mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman di kulit dan mukosa.

Adapun sifat-sifat antiseptik yang ideal adalah:

1. Efektifitas germisid tinggi
2. Bersifat letal terhadap mikroorganisme
3. Kerjanya cepat dan tahan lama
4. Spektrum sempit terhadap infeksi mikroorganisme yang sensitive
5. Tegangan permukaan yang rendah untuk pemakaian topical
6. Indeks terapi yang tinggi

7. Tidak memberikan efek sistemik bila diberikan secara topical
8. Tidak merangsang terjadinya reaksi alergi
9. Tidak diabsorpsi

(FK UNSRI, 1994 : 77)

Dr. Ralph M. Henicke, peneliti di bidang biokimia dari Universitas Hawaii berhasil mengisolasi komponen aktif dari mengkudu yaitu *xeronine*, yang aktif ikut dalam setiap proses metabolisme dalam tubuh. Komponen ini merupakan turunan alkaloid dan terdapat dalam jumlah yang relatif kecil, tetapi berperan sebagai pengatur spesifik keutuhan protein. Meski *xeronine* bebas dalam mengkudu relatif sedikit, namun mengkudu mempunyai *proxeronine* dalam jumlah yang cukup besar untuk dirubah menjadi *xeronine*. Kepiawaian mengkudu melepaskan *xeronine* dari *proxeronine* adalah karena bantuan dari enzim *proxeroninase* yang dimilikinya. Enzim ini secara aktif masuk dalam usus halus dan oleh *proxeronine* diubah menjadi *xeronine*. Selanjutnya *xeronine* diserap oleh sel-sel tubuh dan bekerja menghalau berbagai penyakit dengan mengaktifkan protein-protein yang tidak aktif dan mengatur struktur serta bentuk sel-sel aktif (Sibuea, 2001 : 1-4).

Dampak negatif oksidan dari buah mengkudu dimanfaatkan oleh tubuh untuk melawan serbuan organisme patogen, sehingga dalam sudut pandang ini dampak ini menjadi positif bagi tubuh. Sel-sel radang seperti granulosit, monosit dan makrofag dapat menghasilkan oksidan untuk membunuh organisme patogen. Namun, oksidan tersebut selain dapat menghancurkan mikroorganisme dapat pula merusak sel-sel jaringan tubuh, sehingga apabila terjadi peradangan yang hebat yang banyak melibatkan banyak sel radang, kerusakan jaringan tak dapat dihindarkan (Sjabana, 2002 : 20-21).

#### 2.1.4 Sifat dan Khasiat

Metode kerja *proxeroninase-proxeronine* sama terjadi ketika mengkudu terkonsentrat untuk melawan peradangan. *Proxeronine* adalah senyawa kimia tubuh yang pada saat terjadi peradangan akan keluar melalui pembuluh darah kapiler sambil melepaskan *xeronine* bebas. *Xeronine-xeronine* yang dihasilkan



*proxeronine* akan bekerja melawan peradangan yang terjadi di dalam tubuh (Wijayakusuma, 2001 : 77).

Hasil penelitian Mona Harrison M.D., mantan asisten Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Boston, menunjukkan bahwa sari buah mengkudu dapat meningkatkan aktivitas kelenjar tiroid dan kelenjar timus, yaitu kelenjar di leher yang berfungsi untuk memproduksi hormon yang diperlukan dalam pertumbuhan dan pertahanan diri (kekebalan), misalnya untuk memerangi infeksi, dapat mengatasi depresi dengan jalan mempengaruhi hormon dan neurotransmitter di otak, menstabilkan gula darah dan mencegah pembengkakan prostat (Rukmana, 2002 : 26).

Khasiat buah mengkudu kini semakin banyak disebut-sebut sebagai penakluk penyakit kanker yang ampuh. Dapat juga meningkatkan kekuatan tulang, diuretik, antiseptik, antihelminik (obat cacing), sariawan, meningkatkan imunitas tubuh dan yang lainnya (Purbaya, 2002 : 73).

## **2.2 *Candida Albicans***

### **2.2.1 Definisi *Candida albicans***

*Candida albicans* adalah suatu ragi lonjong, bertunas yang menghasilkan pseudomiselium baik dalam biakan maupun jaringan dan eksudat. Ragi ini adalah anggota flora normal selaput mukosa saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan genitalia wanita. Di tempat-tempat ini, ragi dapat menjadi dominan dan menyebabkan keadaan-keadaan patologik. *Candida albicans* merupakan jamur bersel tunggal dari keluarga *Cryptoceae* (Jawetz, 1996 : 627).

Menurut lokasi infeksi, jamur pada manusia dapat dibagi menjadi 4 golongan, yaitu:

- a. Jamur permukaan yang hidup dalam komponen kulit yang mati, rambut dan kuku yang mengandung keratin
- b. Jamur subkutan yang hidup sebagai saprofit dan menimbulkan nodul kronik atau tukak
- c. Jamur saluran nafas yang berasal dari saprofit tanah dan menimbulkan infeksi paru subklinis atau akut

d. *Candida albicans* yang menimbulkan infeksi superfisial pada kulit dan membran mukosa

(Baratawidjaja, 2002 : 208).

*Candida albicans* yang keberadaannya sebagai flora komensal endogenus dapat berubah dari normal menjadi patogen tergantung dari kondisi yang timbul pada tubuh individu, seperti pada penderita leukimia, tumor ganas, pasca operasi, pemakaian steroid dan antibiotika dalam jangka panjang atau terjadi perubahan faktor lokal dan sistemik yang dapat menimbulkan suatu infeksi yang disebut kandidiasis (Ford dan Haskel dalam Supria'no, 1999 : 324). *Candida albicans* dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah, tromboflebitis, endokarditis, atau infeksi pada mata atau organ-organ lain bila dimasukkan secara intravena (kateter, jarum, hiperalimentasi, penyalahgunaan narkotika, dan sebagainya) (Jawetz, 1996 : 627).

Jamur yang paling sering menginfeksi manusia adalah jamur yang disebut jamur oportunistik. Jamur ini biasanya tidak patogen pada manusia sehat tetapi dapat bersifat sebagai organisme virulen pada individu dengan fungsi imun yang tertekan, seperti pada neonetus, penderita-penderita keganasan limforetikuler penderita dengan pengobatan immunosupresif, atau penderita-penderita dalam suasana klinik lain, misalnya diabetes mellitus atau penggunaan antibiotik berspektrum luas. Jamur yang termasuk kelompok ini adalah *Candida*, *Aspergillus* dan *Phycomycetes*. Pada lingkungan dalam faktor-faktor non spesifik atau spesifik tertekan, jamur ini dapat menimbulkan berbagai macam infeksi lokal atau umum. Jenis akut atau jenis kronik. Diantara ini, *Candida albicans* merupakan jamur patogen oportunistik yang paling penting dan paling sering ditemukan pada manusia. Mikroorganisme ini ditemukan di membran mukosa normal mulut, vagina dan traktus intestinal. Sariawan dan vaginitis merupakan contoh infeksi pada membran mukosa yang disebabkan oleh *Candida*. Perlu ditekankan sekali lagi bahwa gambaran penyakit tidak dapat diterangkan hanya dari fungsi patogen tetapi harus dipandang keseluruhan dengan respon hospes (Bellanti, 1993 : 350-351).

Infeksi jamur disebut oportunistik, karena jamur dapat meningkat pada situasi yang sesuai untuk jamur, yaitu kelelahan dari host. Dengan demikian faktor sistem kekebalan tubuh sangatlah penting. Immunodefisiensi humoral, seluler ataupun komponen fagositik memegang peranan penting pada kandidiasis. Unsur pokok seluler adalah fagosit mononuklear, granulosit atau PMN, trombosit dan limfosit (agranulosit) (Bellanti, 1993 : 18).

### 2.2.2 Morfologi dan Identifikasi

Menurut Jawetz (1996 : 627) pada sediaan apus eksudat, *Candida* tampak sebagai ragi lonjong, bertunas, gram-positif, berukuran 2 - 3 x 4 - 6  $\mu\text{m}$ , dan sel-sel bertunas, gram-positif, yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa).

Menurut Haskell dan Gayford (1990 : 59) *Candida albicans* tahan terhadap suhu dingin tetapi sensitif terhadap panas sebesar 50  $^{\circ}\text{C}$  - 60  $^{\circ}\text{C}$  serta sensitif terhadap pewarnaan anilin seperti metyl violet dan brilliant green. Jamur ini mudah tumbuh pada suhu 20  $^{\circ}\text{C}$  - 37  $^{\circ}\text{C}$  pada agar sabouraud (Volk, 1982 : 536). Koloni tipis terlihat pada 24 - 36 jam pada agar sabouraud dan berdiameter 1,5 - 2 mm setelah 5 - 7 hari (Nolte, 1982 : 524). Pada agar sabouraud yang dieramkan pada suhu kamar, berbentuk koloni-koloni lunak berwarna coklat yang mempunyai bau seperti ragi. Pertumbuhan permukaan terdiri atas sel-sel bertunas lonjong. Pertumbuhan di bawahnya terdiri atas pseudomiselium. Ini terdiri atas pseudohifa yang membentuk blastokonidia pada ujung-ujungnya. *C. albicans* meragikan glukosa dan maltosa, menghasilkan asam dan gas; asam dari sukrosa; dan tidak bereaksi dengan laktosa. Peragian karbohidrat ini bersama dengan sifat-sifat koloni dan morfologi, membedakan *C. albicans* dari spesies *Candida* lainnya. *C. albicans* jauh lebih sering terjadi daripada spesies *Candida* lain dalam menyebabkan infeksi yang simtomatik; spesies *Candida* lain yang kadang-kadang menyebabkan penyakit meliputi *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, dan *Torulopsis glabrata*. Spesies *Candida* lain yang hidup di tanah dan kadang-kadang terdapat sebagai flora normal manusia dan jarang mengakibatkan penyakit pada manusia meliputi *Candida pseudotropicalis*, *Candida krusei*, *Candida stellatoidea*, dan *Candida guilliermondii*. Hanya sel-sel bertunas dari biakan 24 jam *C. albicans* (dan *C. stellatoidea*) - dan tidak spesies lain - akan membentuk

tabung benih dalam 2 - 3 jam bila diletakkan dalam serum pada suhu 37 °C. spesies *Candida stellatoidea* adalah varian sukrosa-negatif dari *Candida albicans*, sedangkan *Candida pseudotropicalis* adalah sinonim untuk *Candida kefyr* (Jawetz, 1996 : 628).

### 2.2.3 Patogenesis dan Patologi

Secara histologik, berbagai lesi kulit pada manusia menunjukkan peradangan. Beberapa menyerupai abses, lainnya berupa granuloma menahun (Jawetz, 1996 : 628). Infeksi akut hanya menyebabkan peradangan ringan walaupun terdapat sejumlah besar polimorf (mikroabses) disekitar mikroorganisme. Pada infeksi kronis terjadi hiperplasi epidermis yang hebat dengan hiperkeratosis, akantosis dan infiltrat sel-sel peradangan kronis (Haskell dan Gayford, 1990 : 58).

Pada penyuntikkan intravena terhadap tikus atau kelinci, suspensi padat *C. albicans* menyebabkan abses yang tersebar luas, khususnya di ginjal, dan menyebabkan kematian kurang dari satu minggu. Kadang-kadang ditemukan sejumlah besar *Candida* dalam saluran pencernaan setelah pemberian antibiotika oral, misalnya tetrasiklin, tetapi hal ini biasanya tidak menyebabkan gejala. *Candida* dapat dibawa oleh aliran darah ke banyak organ, termasuk selaput otak, tetapi biasanya tidak dapat menetap di sini dan menyebabkan abses-abses milier kecuali bila inang lemah. Penyebaran dan sepsis dapat terjadi pada penderita dengan imunitas seluler yang lemah, misalnya mereka yang menerima kemoterapi kanker atau penderita limfoma, AIDS, atau keadaan-keadaan lain.

Pada penyuntikkan intravena terhadap tikus atau kelinci, suspensi padat *Candida albicans* menyebabkan abses yang tersebar luas. Secara histologik, berbagai lesi kulit pada manusia menunjukkan peradangan. Tes *Candida albicans* pada orang dewasa normal hampir selalu positif. Oleh karena itu tes tersebut digunakan sebagai indikator kompetensi imunitas seluler (Jawetz, 1996 : 628-629).

### 2.2.4 Gambaran Klinik

Faktor-faktor predisposisi utama infeksi *C. albicans* adalah sebagai berikut: diabetes melitus, kelemahan menyeluruh, imunodefisiensi, kateter intravena, pemberian antimikroba (yang mengubah flora bakteri normal), dan kortikosteroid. Pada rongga mulut gambaran klinik berupa infeksi mulut (sariawan), terutama pada bayi, terjadi pada selaput mukosa pipi dan tampak sebagai bercak-bercak putih yang sebagian besar terdiri atas pseudomiselium dan epitel yang terkelupas, dan hanya terdapat erosi minimal pada selaput. Pertumbuhan *Candida* di dalam mulut akan lebih subur bila disertai kortikosteroid, antibiotika, kadar glukosa tinggi, dan imunodefisiensi. Selain di rongga mulut juga terdapat di genitalia wanita, kulit, kuku, paru-paru dan organ lain serta kandidiasis mukokutan menahun.

Burket dan Brightman dalam Enny Marwati (2000 : 138), gambaran klinik kandidiasis dibagi menjadi empat bentuk, yaitu *Acute pseudomembranous candidiasis* atau *Thrush*, *Acute atropik candidiasis*, *Chronic atropik candidiasis* dan *Chronic hyperplastic candidiasis*.

#### a. *Acute pseudomembranous candidiasis (Thrush)*

Kandidiasis pseudomembranous akut adalah suatu infeksi oportunistik yang disebabkan oleh pertumbuhan berlebihan dari jamur *Candida albicans* (Langlais dan Miller, 1998 : 68). Penyakit ini merupakan suatu infeksi superfisial dan lapisan atas epitelium mukosa mulut dan mengakibatkan terbentuknya plak putih pada permukaan mukosa yang terdiri atas sel-sel epitel yang berdesquamasi, sel-sel radang, fibrin, ragi dan elemen miselia. Mukosa disekelilingnya bisa merah bisa tidak akan tetapi pembuangan plaks dengan gosokan atau kerokan yang lembut biasanya memperlihatkan daerah kemerahan atau bahkan ulserasi yang dangkal (Lynch, 1992 : 268).

*Thrush* dapat terjadi pada segala umur tetapi yang paling sering ditemukan pada bayi dan lansia yang sangat lemah. Pada bayi keadaan tersenut timbul pada hari ke 2 – 5 kehidupan dan tampak berupa bercak putih pada bibir, pipi, palatum dan lidah. Mukosa disekitarnya tidak meradang dan pseudomembran sukar dikelupas, 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 keadaan-keadaan tersebut (Haskell dan Gayford, 1990 : 59).

Diagnosa dapat ditentukan dengan pemeriksaan klinis, kultur jamur, atau pemeriksaan mikroskopis secara langsung dari pengerokan jaringan. Usap sitologik dengan pewarnaan potasium hidroksida (KOH), PAS akan menunjukkan organisme yang sedang berbenih dengan pseudohifa yang bercabang-cabang (Langlais dan Miller, 1998 : 68).

**b. Acute atrophic candidiasis (Antibiotik Sore Mouth)**

Penggunaan antibiotik spektrum luas, terutama tetrasiklin dapat mengakibatkan kondisi mulut yang disebut "*Acute atrophic candidiasis*". Infeksi jamur ini adalah akibat dari ketidakseimbangan dalam ekosistem oral antara *Lactobacillus acidophilus* dan *Candida albicans*. Infeksi tersebut membuat daerah-daerah mukosa permukaan mengelupas dan tampak sebagai bercak-bercak warna merah difus yang tidak menimbulkan. Sakit seperti terbakar adalah keluhan utama yang paling sering. Lesi yang mengenai mukosa pipi, bibir dan orofaring seringkali menunjukkan adanya pemakaian antibiotik secara sistemik, sedang merahnya lidah dan palatum lebih umum setelah penggunaan antibiotik hisap (Langlais dan Miller, 1998 : 68).

Diagnosis mungkin tidak begitu jelas pada pasien yang rajin menggunakan obat kumur atau sikat gigi sesaat sebelum pemeriksaan (Lynch, 1998 : 276).

**c. Chronic atrophic candidiasis (Denture Stomatitis)**

*Chronic atrophic candidiasis* 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 tanda pecah-pecah dan peradangan dari komisura mulut (Lynch, 1998 : 276).

*Chronic atrophic candidiasis* disebabkan oleh organisme candida yang ada di bawah dasar gigi tiruan. Ada 3 tahap perubahan mukosa. Lesi yang paling dini adalah daerah-daerah hiperemia sebesar ujung jarum, berwarna merah dan terbatas di muara kelenjar-kelenjar liur minor palatal. Kalau melanjut akan menjadi eritema difus pada palatum keras yang kadang-kadang disertai dengan

pengelupasan epitel. Tahap ketiga adalah hiperplasi papiler. Dapat menyeluruh atau terbatas pada daerah-daerah "relief". Jarang tampak tahap keempat yaitu pembesaran papil-papil palatum untuk membentuk nodula-nodula pada atap palatum (Langlais dan Miller, 1998 : 68).

#### **d. Chronic hyperplastic candidiasis**

*Chronic hyperplastic candidiasis* disebabkan oleh *Candida* yang menembus permukaan mukosa dan menstimulasi respon hiperplastik. Iritasi kronis, kebersihan mulut yang jelek dan xerostomia adalah faktor-faktor predisposisi, jadi perokok dan pemakai gigi tiruan seringkali terkena. Daerah-daerah yang paling sering adalah dorsum lidah, palatum dan sudut-sudut bibir. Reaksi tersebut selalu mempunyai tepi menimbul yang tegas dan permukaan putih berbintil-bintil dengan beberapa daerah merah, karenanya keadaan tersebut sangat mirip dengan leukoplakia atau eritroleukoplakia. Komponen eritematousik yang berpenyakit adalah akibat dari kerusakan sel mukosa (Langlais dan Miller, 1998 : 68).

### **2.3 Polymorfonuclear (PMN)**

#### **2.3.1 Definisi Polymorfonuclear (PMN)**

*Polymorfonuclear* (PMN) adalah suatu bentukan sel darah putih dalam hapusan darah tepi atau jaringan, berbentuk bulat dengan sitoplasma yang banyak agak kemerahan, inti berwarna ungu, berbentuk batang atau segmen.

Pada manifestasi setempat terdapat faktor-faktor yang berpengaruh, yaitu komponen vaskular seluler dan eksudat. Pada komponen seluler, berbagai agen etiologik menyebabkan variasi dalam jumlah dan jenis sel yang ditemukan pada tempat beredarnya. Sel darah putih yang ditemukan :

#### **1. Leukosit Granulosit**

- a. **Neutrofil** atau sering disebut leukosit *Polymorfonuclear* neutrofil, merupakan sel pertama dan yang paling banyak ditemukan pada peradangan akut. Sel ini motil, ameboid, fagositik aktif dan memberikan respon kemotaksis.

- b. **Eosinofil**, beremigrasi dalam jumlah yang bermakna dari aliran darah pada stadium lanjut dan penyembuhan. Sejumlah besar sering dikaitkan dengan infeksi parasit dan keadaan alergik.
- c. **Basofil** dan sel mast, granula-granula dalam sitoplasma mengandung histamin, bahan anafilaksis bereaksi lambat (SRS-A), faktor eosinofil kemotaktik dari anafilaksis (ECF-A) dari faktor aktivasi trombosit. Sel tampak mengalami degranulasi setelah pelepasan dari bahan-bahan ini. Mereka berkaitan dengan penyakit yang diperantai oleh respon imun.

## 2. Agranulosit

### a. Limfosit dan Sel Plasma

Fungsi utama adalah pada imunitas seluler dan hormonal. Mereka tidak mencapai daerah peradangan pada stadium dini, tetapi kemudian memainkan peranan penting, khususnya pada peradangan penting, khususnya pada peradangan kronik dan penyakit granulomatos, contohnya tuberkulosis, sifilis.

### b. Monosit

Sel fagosit ditemukan dalam darah dalam jumlah yang kecil yang tampak dalam eksudat peradangan segera setelah fase awal dari reaksi peradangan. Bersifat motil dan memperlihatkan respon kemotaktik yang lemah (Thompson, 1994 : 27-28).

Granulosit dalam sirkulasi terdiri dari tiga macam sel yang secara morfologis dapat dibedakan ikut terlibat dalam banyak reaksi-reaksi imunologik di dalam jaringan; sel-sel ini termasuk neutrofil, eosinofil dan basofil, dari ketiga sel ini hanya neutrofil yang terutama berperan fagositik, sedang eosinofil hanya sedikit sekali (Junqueira, 1989 : 259).

### 2.3.2 Neutrofil

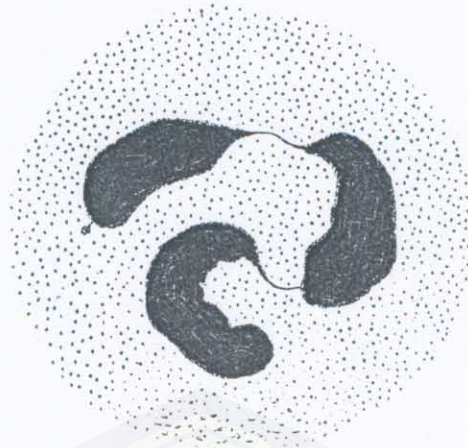
Neutrofil merupakan sel yang 60 – 70 % leukosit yang beredar, berkembang dalam sumsum tulang dan dikeluarkan ke dalam sirkulasi. Garis tengah mereka sekitar 12  $\mu\text{m}$ , dengan satu inti yang terdiri atas 2 - 5 lobus yang berbentuk sosis satu sama lain saling dikatkan oleh benang-benang halus kromatin. Neutrofil yang imatur mempunyai inti yang tidak bersegmen yang



berbentuk tapal kuda (Junqueira, 1989 : 260). Membran plasma neutrofil tidak jelas. Selaput inti mengelilingi inti, yang mempunyai beberapa lobi yang jelas mengandung sejumlah besar granula heterokromatin perifer yang mencolok dan sejumlah kecil filamen eukromatin (Johnson, 1994 : 159).

Granula-granula yang terdapat pada neutrofil (50 - 200) dalam setiap sel dikelilingi oleh suatu membran dan dapat dibagi menjadi 2 jenis: azurofilik dan spesifik. Selain sifat pewarnaannya, granula-granula juga berbeda dilihat dari bentuk kronologik tiap-tiap jenis granula selama perkembangan granulosit dalam sumsum tulang; bentuk histologis dari 2 jenis granula-granula dalam mikroskop elektron dan enzim yang terdapat dalam tiap jenis, yang menunjukkan perbedaan dalam fungsinya.

- a. **Granula azurofilik** tampak pertama kali pada stadium pematangan promielosit dan jumlahnya berkurang dengan tiap-tiap pembelahan sel yang berturut-turut; mereka terdapat dalam sel-sel matang, tetapi sebagian besar kehilangan sifat pewarnaannya; mereka besar dan di bawah mikroskop elektron tampak penuh elektron. Mereka mengandung enzim-enzim lisosom dan peroksidase (Junqueira, 1989 : 260). Primer atau tipe A berwarna dengan zat warna azur dan untuk diagnose neutrofil. Granula padat elektron yang besar ini ( $0,4 \mu\text{m}$ ) merupakan 40 % dari seluruh granula dan tampak pada mikroskop cahaya (Johnson, 1994 : 159).
- b. **Granula spesifik** tampak pada stadium mielosit; mereka lebih kecil dan mengandung fosfatase alkali dan zat-zat bakterisidal (protein kationik) yang dinamakan fagositin. Granula-granula mengalami pergerakan Brown atau suatu pergerakan cepat yang menyangkut satu granula atau lebih yang menunjukkan perpindahan kecil atau besar (Junqueira, 1989 : 260). Sekunder atau tipe B lebih kecil ( $0,2 \mu\text{m}$ ) dan mungkin mengandung kristaloid. Granula ini merupakan 80 % dari seluruh granula dan tidak tampak pada mikroskop cahaya (Johnson, 1994 : 159).



Gambar 1. Bentuk Leukosit Neutrofil (Junqueira, 1998).

Granula yang banyak sekali terlihat dalam sitoplasma neutrofil. Sebenarnya merupakan paket-paket enzim yang terikat membran, yaitu lisosom yang dihasilkan selama pematangan sel. Enzim-enzim ini terdiri atas berbagai hidrolase yaitu termasuk protease, lipase, pospatase, dan sebagainya. Selain itu yang berhubungan dengan granula adalah berbagai zat antimikrobal. Jadi kenyataannya, neutrofil polymorfonuklear yang matang adalah suatu kantong yang berjalan dan mengandung banyak enzim dan partikel-partikel inti mikrobial. Neutrofil polymorfonuklear mampu aktif bekerja seperti amuba dan mampu menelan berbagai zat dengan proses fagositosis (Bellanti, 1993 : 18-19)

Sitoplasma juga terdiri dari glikogen dan banyak filamen dan mikrotubuli (fungsi dari pergerakan). Pada wanita kromosom yang aktif dapat terlihat seperti *stik drum*. Garis pertahanan pertama melawan mikroorganisme, terutama bakteri. Mereka aktif memfagositosis partikel-partikel yang diambil dalam vakuola, pH rendah oleh pompa membran proton, granula azurofilik menyatu dan kosong. Membunuh dan terjadi pencernaan (Uthman, 2001 : 1-4).

Partikel-partikel yang difagosit oleh neutrofil dikelilingi oleh pseudopodia yang bersatu mengelilinginya. Jadi partikel akhirnya menempati suatu vakuol (fagosom) yang dibatasi oleh membran yang berasal dari permukaan sel dan mengandung cairan ekstra sel dengan isinya. Segera setelah itu, granula azurofilik dan granula spesifik menggabungkan membrannya pada membran fagosom dan mengosongkan isinya ke dalam fagosom, sehingga melindungi sitoplasma dari

kontak dengan enzim-enzim yang terdapat dalam granula. Pada proses ini terdapat pengeluaran granula dan akibatnya jumlah granula berkurang. Adanya asam amino Dioksidase dalam granula azurofilik penting dalam pencernaan dinding sel bakteri yang mengandung asam amino D. Lisosom yang terdapat dalam granula-granula ini juga penting untuk destruksi dinding sel bakteri. Enzim ketiga juga sebagai pembantu efek bakterisidal *Polymorfonuclear* (PMN) neutrofil (Junqueira, 1989 : 261).

Perpindahan neutrofil ke daerah peradangan yaitu produk dari jaringan yang meradang juga menyebabkan neutrofil pindah dari sirkulasi ke dalam daerah yang meradang. Mereka melakukan hal ini dalam tiga jalan, yaitu:

- a. **Pertama**, mereka merusak dinding kapiler sehingga menyebabkan neutrofil melekat, proses yang dinamai marginasi.
- b. **Kedua**, mereka sangat meningkatkan permeabel kapiler dan vena kecil serta hal ini memungkinkan neutrofil lewat dengan diapedesis ke dalam ruangan jaringan.
- c. **Ketiga**, fenomena neutrofil menyebabkan kemotaksis neutrofil bermigrasi ke arah jaringan yang cedera. Sehingga dalam beberapa jam setelah dimulai kerusakan jaringan, area ini dipenuhi dengan neutrofil. Karena neutrofil merupakan sel yang matang, mereka siap memulai fungsinya segera untuk membuang benda asing dari jaringan yang meradang (Guyton, 1991 : 54).

Fagositosis oleh neutrofil, neutrofil sewaktu memasuki jaringan sudah merupakan sel-sel matur yang dapat segera memulai fagositosis. Suatu mendekati suatu partikel untuk difagositosis, mula-mula neutrofil melekatkan diri pada partikel kemudian menonjolkan pseudopodia ke semua jurusan di sekeliling partikel. Pseudopodia saling bertemu satu sama lain pada sisi yang berlawanan dan bergabung. Hal ini menciptakan ruangan tertutup yang berisi partikel yang sudah difagositosis. Kemudian ruangan ini berinvaginasi ke dalam rongga sitoplasma dan melepaskan diri dari bagian luar membran sel untuk membentuk gelembung fagositik yang mengapung dengan bebas (juga disebut *fagosom* dalam sitoplasma). Sebuah sel neutrofil dapat menfagositosis 5 sampai 20 bakteri sebelum sel neutrofil itu sendiri menjadi inaktif dan mati (Junqueira, 1997 : 546).

#### 2.4 Mengkudu dan Kandidiasis.

Dr. Ralph M. Henicke, peneliti di bidang biokimia dari Universitas Hawaii berhasil mengisolasi komponen aktif dari mengkudu yaitu *xeronine*, yang aktif ikut dalam setiap proses metabolisme dalam tubuh. Komponen ini merupakan turunan alkaloid dan terdapat dalam jumlah yang relatif kecil, tetapi berperan sebagai pengatur spesifik keutuhan protein. Meski *xeronine* bebas dalam mengkudu relatif sedikit, namun mengkudu mempunyai *proxeronine* dalam jumlah yang cukup besar untuk dirubah menjadi *xeronine*. Kepiawaian mengkudu melepaskan *xeronine* dari *proxeronine* adalah karena bantuan dari enzim *proxeroninase* yang dimilikinya. Enzim ini secara aktif masuk dalam usus halus dan oleh *proxeronine* diubah menjadi *xeronine*. Selanjutnya *xeronine* diserap oleh sel-sel tubuh dan bekerja menghalau berbagai penyakit dengan mengaktifkan protein-protein yang tidak aktif dan mengatur struktur serta bentuk sel-sel aktif. (Sjabana, 2002 : 16).

Sebagai aktivitas sel dalam mengatasi antigen yang masuk ke dalam tubuh menjadi meningkat. Sel-sel tersebut antara lain sel-sel radang seperti Polimononuklear neutrofil (PMN), limfosit dan monosit (MMN). (Bellanti, 1993 : 21). Dengan demikian faktor sistem kekebalan tubuh sangatlah penting. Immunodefisiensi humoral, seluler ataupun komponen fagositik memegang peranan penting pada kandidiasis. Unsur pokok seluler adalah fagosit mononuklear, granulosit atau PMN, trombosit dan limfosit (agranulosit) (Bellanti, 1993 : 18). Polymorfonuklear banyak dijumpai pada keadaan host yang terkena infeksi *Candida albicans* karena pada proses peradangan fase seluler awal sel pertama yang secara kimia tertarik ke daerah radang adalah polymorfonuklear (Yuwono, 2001 : 5). Dalam sirkulasi sekitar 12 jam PMN masuk ke dalam jaringan dimana mereka menyelesaikan jangka hidupnya dalam beberapa hari (Bellanti, 1993 : 24).

Dr. Henicke mengatakan bahwa fungsi utama *xeronine* adalah untuk mengatur kekakuan (*rigiditas*) dan bentuk dari protein-protein khusus, karena protein-protein ini memiliki fungsi yang berbeda-beda dalam sel, maka ini dapat menjelaskan bagaimana pemberian jus buah mengkudu menyebabkan respons

fisiologis yang luar biasa luas. Ia telah mematenkan penemuannya ini. Dr. Heinicke juga berhasil menguak proses pengubahan *proxeronine* menjadi *xeronine* yang ternyata memerlukan suatu enzim yang diberinya nama *proxeroninase*. Enzim inipun banyak ditemukan di dalam buah mengkudu (Sjabana, 2002 : 16-17). Dr. Heinicke mengatakan bahwa *xeronine* sebagai pengatur spesifik keutuhan protein. Tanpa *xeronine* protein tubuh akan rusak.

Selain itu Dr. Mona Harrison mengatakan buah mengkudu dengan kandungan *xeronine* akan membantu memperbaiki dan mengaktifkan fungsi kelenjar tiroid dan kelenjar timus yang penting untuk kekebalan tubuh (Anonim, 2002 : 1). Hasil penelitian Mona Harrison M.D., mantan asisten Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Boston, menunjukkan bahwa sari buah mengkudu dapat meningkatkan aktivitas kelenjar tiroid dan kelenjar timus, yaitu kelenjar di leher yang berfungsi untuk memproduksi hormon yang diperlukan dalam pertumbuhan dan pertahanan diri (kekebalan), misalnya untuk memerangi infeksi, dapat mengatasi depresi dengan jalan mempengaruhi hormon dan neurotransmitter di otak, menstabilkan gula darah dan mencegah pembengkakan prostat (Rukmana, 2002 : 26).

Hormon yang dihasilkan dapat berikatan dengan reseptor membran sel dan dapat mengaktifkan pengkodean protein yang berfungsi sebagai aktivator ataupun inhibitor dalam sistem imun. Pada infeksi kandida yang dapat ditandai dengan adanya sel polimorfonuklear neutrofil dalam jumlah yang sedikit, maka dengan adanya *xeronine* dapat mempengaruhi aktivitas sel-sel untuk memproduksi sel polimorfonuklear neutrofil. Sehingga setelah mengkonsumsi mengkudu diharapkan akan terjadi seluruh rangkaian peristiwa seluler dan humoral, yang merupakan respons imun nonspesifik dan spesifik. Respon imun spesifik terdiri atas fagositosis dan respons inflamatoris (Bellanti, 1993 : 18).

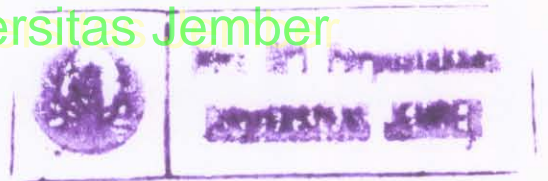
Respon ini dapat digunakan sebagai pertanda terjadinya penurunan infeksi yang diakibatkan *Candida albicans*. Senyawa *terpenoid* merupakan senyawa karbon isomerik yang berfungsi membantu tubuh untuk proses sintesa organik dan pemulihan sel-sel tubuh. *Acubin*, *alizarin* dan beberapa zat *antrakuinon* sebagai zat antibakteri, anti radang dan anti alergi. *Scopoletin* ( $C_{10}H_8O_4$ ) adalah suatu zat

pertumbuhan nabati yang pertama kali ditemukan pada tanaman. Zat *hidroksi-metoksi-kumarin* ini membawa serta *serotonin* yang berfungsi sebagai neurotransmitter dalam otak untuk mengantarkan sinyal saraf. Zat ini juga berfungsi sebagai anti inflamasi (Anonim, 2002 : 2).

Asam benzoat berfungsi untuk fungistatik. Sedangkan *eugenol* berfungsi untuk preparat analgesik denta (FKUI, 1995 : 438). Asam benzoat berfungsi untuk fungistatik dengan cara menghambat asam folat jamur. Asam folat ini sangat penting untuk metabolisme sel jamur sehingga dengan adanya hambatan pada sintesis asam folat, menyebabkan kerusakan pada sel jamur. Sel polimorfonuklear neutrofil (PMN) yang terjadi penurunan pada keadaan infeksi *Candida*, akan mengalami peningkatan sebagai akibat banyaknya jamur yang lisis. Sehingga sel-sel polimorfonuklear neutrofil (PMN) dapat digunakan sebagai tanda menurunnya infeksi jamur.

### 2.5 Hipotesa

Pemberian perasan mengkudu 100% intragastrik dapat menurunkan jumlah PMN jaringan gingiva tikus Wistar jantan yang dipapar *Candida albicans*.



### BAB III METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis, Tempat, dan Waktu Penelitian

##### 3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

##### 3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium bagian Biomedik (Laboratorium Histologi, Fisiologi dan Mikrobiologi) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

##### 3.1.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni - Juli 2003.

#### 3.2 Variabel Penelitian

##### 3.2.1 Variabel Bebas

Perasan buah mengkudu 100%.

##### 3.2.2 Variabel Terikat

Jumlah *Polymorfonuclear* (PMN) pada sediaan jaringan gingiva.

##### 3.2.3 Variabel Terkendali

- 1) Makanan tikus dan minuman dari PDAM (komposisi makanan tikus terdapat pada lampiran 3),
- 2) Cara pemberian mengkudu,
- 3) Dosis *Candida albicans*,
- 4) Cara paparan *Candida albicans*,
- 5) Lamanya pemberian *Candida albicans*.

#### 3.3 Definisi Operasional

- a. Buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*).
- Buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) adalah buah yang berbentuk lonjong dengan panjang sekitar 5-10 cm. Permukaan bulat tidak rata atau berbenjol-benjol, berwarna hijau ketika mentah dan berwarna kuning pucat atau kuning kotor ketika buah telah matang, daging buahnya tebal dan banyak mengandung air. Buahnya berbau busuk menyengat dengan jenis

buah mengkudu berbiji yang berwarna coklat kehitaman dan buahnya matang (Wijayakusuma, 2001 : 13).

b. *Polymorfonuclear* (PMN)

*Polymorfonuclear* (PMN) adalah suatu bentukan sel darah putih dalam hapusan sel darah tepi atau jaringan, berbentuk bulat dengan sitoplasma yang banyak & tidak kemerahan, inti berwarna ungu, berbentuk batang atau segmen (Junqueira, 1989 : 259).

### 3.4 Populasi Penelitian

Populasi penelitian : tikus Wistar jantan dewasa.

### 3.5 Unit Analisis Penelitian

Unit analisis penelitian : jaringan gingiva.

### 3.6. Besar dan Kriteria Sampel

#### 3.6.1 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 (penghitungan dapat dilihat pada lampiran 4).

#### 3.6.2 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus dengan kriteria sebagai berikut :

- 1) Tikus Wistar jantan (*Strain Wistar*)
- 2) Tikus dengan berat badan 100 - 200 gram
- 3) Tikus yang berumur 2 – 3 bulan.



### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- |                                |                      |
|--------------------------------|----------------------|
| 1) sonde lambung,              | 10) <i>scalpel</i> , |
| 2) lampu spiritus,             | 11) pinset,          |
| 3) kaca obyek,                 | 12) gunting,         |
| 4) kantung plastik,            | 13) kain peras,      |
| 5) mikroskop cahaya,           | 14) gelas,           |
| 6) rak kaca obyek,             | 15) neraca OHAUSS,   |
| 7) mikrotom,                   | 16) parutan kelapa,  |
| 8) <i>disposable syringe</i> , | 17) oven,            |
| 9) jaringan kawat,             | 18) inkubator.       |

#### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan dalam penelitian ini adalah :

- |  |                           |
|--|---------------------------|
| 1) perasan mengkudu dosis 4,5 ml,                                | 8) aquades,               |
| 2) <i>Candida albicans</i> $1 \times 10^8$ yeast <i>C alb.</i> , | 9) formalin,              |
| 3) cat HE,   | 10) <i>xylol</i> ,        |
| 4) minyak emersi,  | 11) alkohol absolut,      |
| 5) jaringan gingiva tikus,                                       | 12) <i>eter chlorid</i> , |
| 6) formaldehide,   | 13) makanan tikus,        |
| 7) parafin,  | 14) entelan.              |

Gambar alat dan bahan dapat dilihat pada lampiran 5.

### 3.8 Konversi Dosis Pemberian Perasan Mengkudu dari Manusia ke Tikus

Bahan yang digunakan adalah perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) 100% dengan dosis 4,5 ml. Besarnya dosis didasarkan atas aplikasi dosis konversi manusia ke tikus dapat dilihat pada lampiran 6.

### 3.9 Prosedur Penelitian

#### 3.9.1 Tahap Persiapan

- a. Tikus diadaptasikan dengan lingkungan selama  $\pm$  1 minggu dan diberi makanan tikus dan minuman dari PDAM (komposisi makanan tikus terdapat pada lampiran 3).
- b. Mempersiapkan perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dengan konsentrasi 100%. Buah mengkudu yang baru dipetik, dibuang tangkainya dan dibersihkan dengan menggunakan air. Buah mengkudu yang sudah bersih lalu diparut tanpa dibuang bijinya dengan menggunakan parutan kelapa. Setelah didapatkan hasil parutan berupa campuran ampas dan sari pati air mengkudu kemudian hasil parutan tersebut disaring dengan menggunakan saringan teh untuk memisahkan antara ampas dan sari pati air mengkudu. Hasil perasan buah mengkudu tersebut tidak dilakukan pengenceran lagi sehingga didapatkan perasan buah mengkudu dengan konsentrasi 100%. Mengkudu yang digunakan fresh dan setiap hari dilakukan persiapan perasan mengkudu selama 10 hari.

#### 3.9.2 Tahap Pengelompokan Subyek

Sesuai dengan besar sampel maka tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, yaitu sebagai berikut :

1. Kelompok I (kelompok kontrol negatif)  
5 ekor tikus yang diberi makanan dan minum.
2. Kelompok II (kelompok kontrol positif)  
5 ekor tikus yang dipapar *Candida albicans*.
3. Kelompok III (kelompok pelakuan)  
5 ekor tikus diberi perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) 100% dan dipapar *Candida albicans*.

#### 3.9.3 Tahap Pemberian Perasan Mengkudu

Perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dengan konsentrasi 100% diberikan ke tikus secara intragastrik dengan menggunakan sonde lambung sesuai dengan dosis konversi manusia ke tikus yaitu 4,5 ml. Pemberian setiap hari satu

- kali dalam kurun waktu tetap (setiap pukul 10.00 – 12.00 WIB) selama 10 hari. Perlakuan ini dilakukan pada kelompok III.

#### 3.9.4 Tahap Pemberian *Candida albicans*

*Candida albicans* berupa suspensi yang sudah dilakukan pengenceran sebanyak 8 kali diberikan ke tikus secara peroral dengan cara dipapar menggunakan syringe sebanyak 0,5-1 cc dengan konsentrasi  $1 \times 10^8$  CFU yeast *Candida albicans* setiap 2 hari sekali selama 5 hari setelah pemberian mengkudu.

#### 3.9.5 Tahap Preparasi Jaringan

Hewan coba dikorbankan pada hari ke-11 dengan cara inhalasi eter klorid, yang selanjutnya diikuti pengambilan atau pemotongan jaringan gingiva (*attach gingiva*).

#### 3.9.6 Tahap Pembuatan Sediaan

Tahap pembuatan sediaan diuraikan pada lampiran 1.

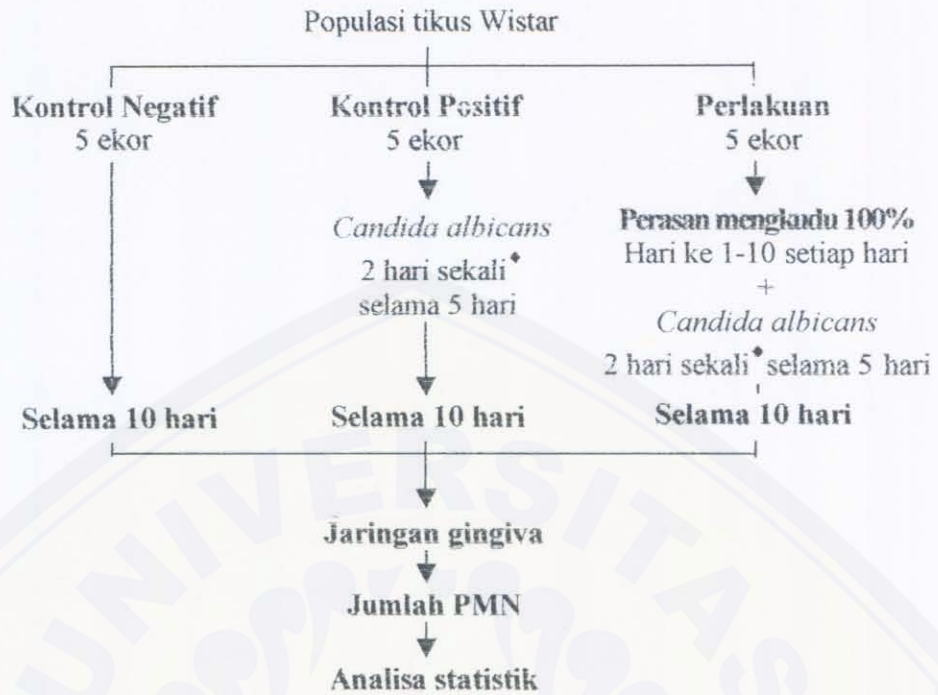
#### 3.9.7 Tahap Pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE)

Tahap pengecatan diuraikan pada lampiran 2.

#### 3.9.8 Tahap Penghitungan Jumlah PMN

Letakkan sediaan hapusan yang akan diperiksa pada mikroskop cahaya. Kemudian menggunakan lensa obyektif yang sesuai pada mikroskop binokuler (pembesaran 1000x), lalu menghitung jumlah PMN per lapang pandang, setiap satu sediaan terdiri dari 5 lapang pandang kemudian jumlah tersebut dirata-ratakan. Untuk mendapatkan hasil rata-rata dengan cara dilakukan penghitungan jumlah PMN secara keseluruhan kemudian dibagi jumlah total lapang pandang maka didapatkan hasil rata-rata jumlah PMN pada sediaan (Wirawan dan Silman, 1992).

### 3.10 Alur Penelitian



Ket : \* Sumber : Teichert (2002 : 155-160).

### 3.11 Analisa Data

Data yang diperoleh kemudian ditabulasi dan dianalisa dengan menggunakan uji Anova dengan  $\alpha = 5\%$  setelah itu setiap perlakuan diuji dengan menggunakan uji LSD.



## BAB IV

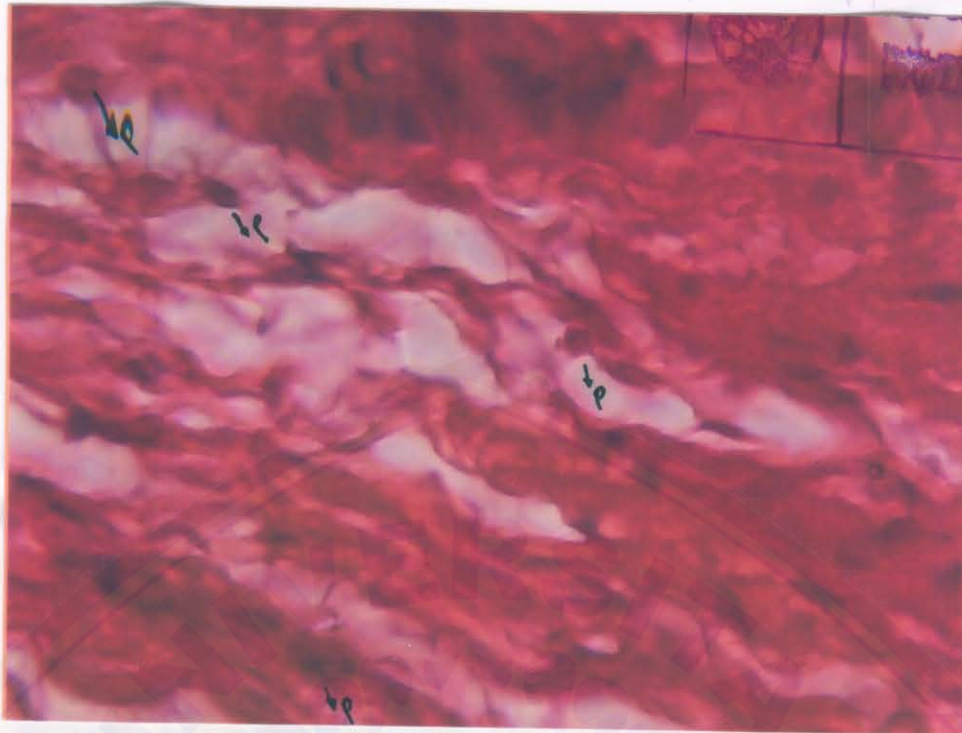
## HASIL DAN ANALISA DATA

## 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak mengkudu 100% (*Morinda citrifolia L.*) dibandingkan dengan kelompok kontrol terhadap jumlah PMN pada jaringan gingiva tikus Wistar jantan telah dilakukan di Laboratorium Biomedikal (Laboratorium Histologi, Fisiologi dan Mikrobiologi) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan populasi penelitian 15 ekor tikus Wistar jantan. Angka yang didapatkan di dalam penelitian ini berdasarkan rerata jumlah PMN dalam setiap jaringan gingiva tikus yang diamati di bawah mikroskop. Hasil penelitian disajikan di dalam tabel 3.

Tabel 3. Jumlah PMN Setelah Perlakuan Selama 10 hari

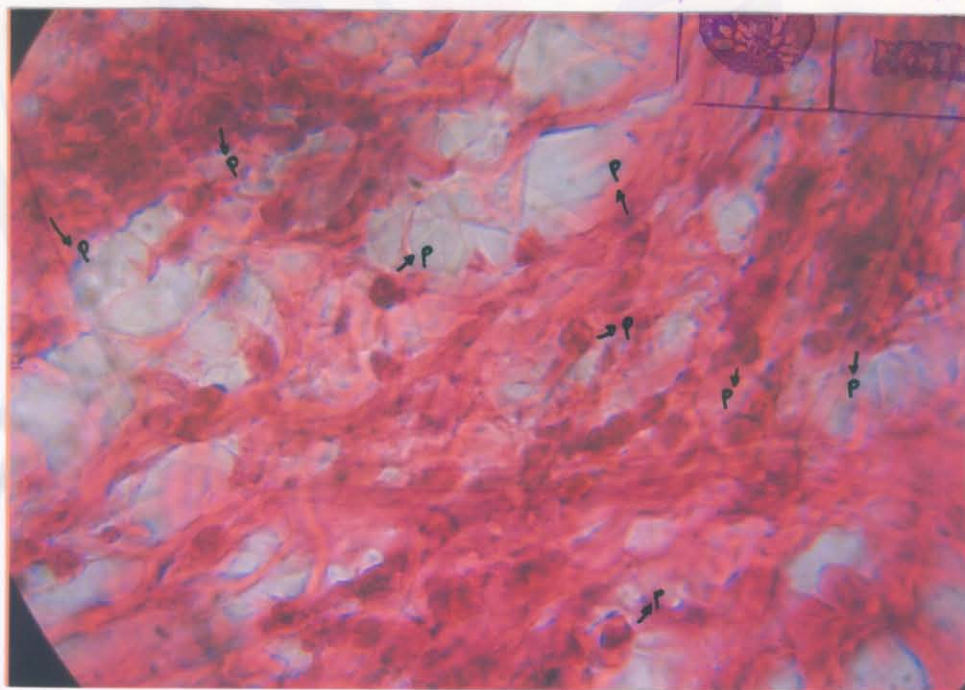
Kelompok Tikus	Sampel Perlakuan		
	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Perlakuan
1	3,95	5,64	4,5
2	3,67	5,6	5,4
3	3,9	5,24	4,75
4	3,7	5,36	4,65
5	3,92	5,36	4,95
Total	19,14	27,2	24,24
Rerata	3,83	5,44	4,85



Gambar 2. Foto sediaan gingiva tikus Wistar jantan dengan pewarnaan HE pada kelompok yang tidak diberi perlakuan (kontrol) pembesaran 1000x per lapang pandang.

Keterangan:

P : Polymorfonuclear (PMN)

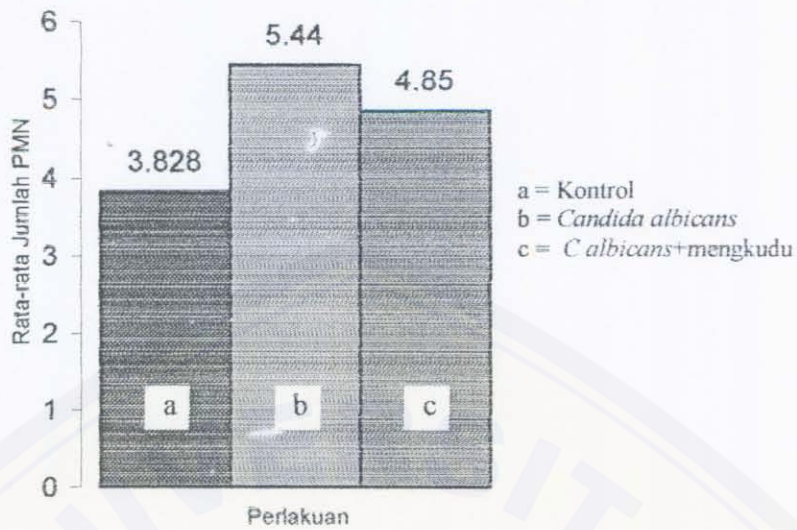


Gambar 3. Foto sediaan jaringan gingiva tikus Wistar jantan dengan pewarnaan HE pada kelompok yang dipapar *Candida albicans* pembesaran 1000x per lapang pandang.

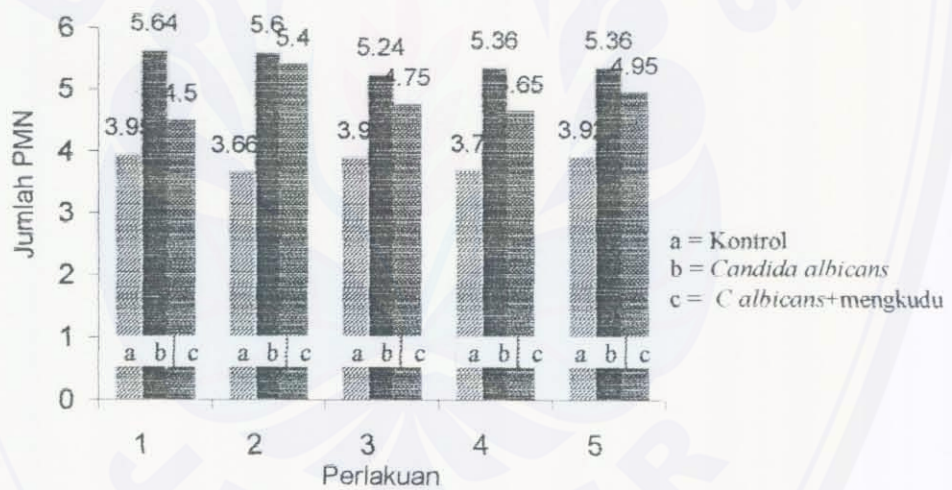
Keterangan:

P : Polymorfonuclear (PMN)

Diagram batang untuk rata-rata jumlah PMN dan jumlah PMN pada ketiga kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 5 dan 6.



Gambar 5. Diagram Batang dari Rata-rata Jumlah PMN.



Gambar 6. Diagram Batang Jumlah PMN Pada Ketiga Kelompok Perlakuan.

Berdasarkan rata-rata hasil pengamatan jumlah PMN diatas, dapat diketahui sebagai berikut :

1. Kontrol positif memiliki jumlah PMN yang paling banyak daripada kontrol negatif dan perlakuan.

2. Kontrol negatif memiliki jumlah PMN paling sedikit daripada kontrol positif dan perlakuan.
3. Perlakuan memiliki jumlah PMN yang lebih banyak daripada kontrol negatif.
4. Kontrol negatif < perlakuan < kontrol positif.

#### 4.2 Analisa Data dan Hasil Penelitian

Analisa data didahului dengan uji Homogenitas varian untuk menguji berlaku tidaknya salah satu asumsi yaitu ragam dari populasi-populasi tersebut sama, yang ditampilkan pada tabel 5 di bawah ini.

**Tabel 4. Hasil Uji Homogenitas Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol**

<i>Levene Statistic</i>	<i>Df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig.</i>
2.122	2	12	0.163

Keterangan : - *Levene statistic* : tarif kepercayaan

- *df1* : derajat bebas kelompok perlakuan
- *df2* : standart error
- *Sig.* : probabilitas

**Tabel 5. Hasil uji Anova satu arah pada kelompok kontrol dan perlakuan**

	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	6.657	2	3.329	59.242	0.000
<i>Within Groups</i>	0.674	12	5.619E-02		
<i>Total</i>	7.331	14			

Keterangan : - *Sum of Square* : jumlah kuadrat  
 - *df* : derajat bebas  
 - *Mean Square* : kuadrat tengah  
 - *Sig.* : probabilitas



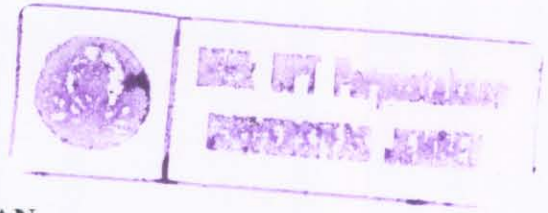
**Tabel 6. Uji LSD Pada Ketiga Kelompok Perlakuan Terhadap Jumlah PMN.**

(I)Perlakuan	(J)Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	C albicans	-1.6126*	0.1499	.000	-1.9392	-1.2860
	C albicans + Mengkudu	-1.0226*	0.1499	.000	-1.3492	-0.6960
C albicans	Kontrol	1.6126*	0.1499	.000	1.2860	1.9392
	Mengkudu + C albicans	0.5900*	0.1499	.000	0.2634	0.9166
Mengkudu + C albicans	Kontrol	1.0266*	0.1499	.000	0.6960	1.3492
	C albicans	-0.5900*	0.1499	.000	-0.9166	-0.2634

Keterangan: \* = berarti terdapat perbedaan yang nyata (signifikan).

Dari tabel 6 dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan yang diberi perasan mengkudu dan dipapar *Candida albicans*, dimana jumlah PMN pada kelompok perlakuan yang diberi perasan mengkudu dan dipapar *Candida albicans* lebih besar dibanding dengan kelompok kontrol negatif (kontrol).
2. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan yang dipapar *Candida albicans*, dimana jumlah PMN pada kelompok kontrol positif yang dipapar *Candida albicans* lebih besar dibanding dengan kelompok perlakuan.
3. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif yang tidak diberi perasan mengkudu dan dipapar *Candida albicans* dengan kelompok kontrol negatif (kontrol), dimana jumlah PMN pada kelompok kontrol positif yang dipapar *Candida albicans* lebih besar dibanding dengan kelompok kontrol negatif.
4. Terdapat perbedaan yang signifikan antara ketiga kelompok, dimana kelompok kontrol positif jumlah PMN lebih besar daripada kelompok kontrol negatif dan perlakuan.

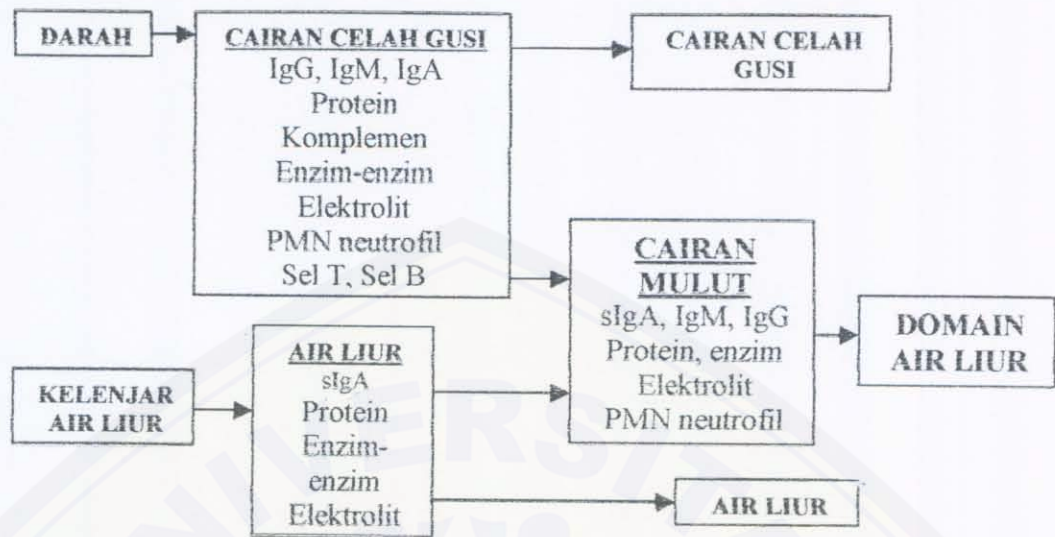


## BAB V PEMBAHASAN

Hasil penelitian tabel 6 menunjukkan rata-rata jumlah PMN pada tiap perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan diantara ketiga kelompok. Jumlah PMN terbanyak terdapat pada kontrol positif daripada jenis perlakuan yang lainnya. Jumlah PMN pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok perlakuan hasilnya mengalami penurunan jumlah PMN. Yuwono (2001) mengatakan bahwa tahap inflamasi atau peradangan dimulai saat terjadinya infeksi dan hilangnya faktor yang memperlama peradangan  $\pm$  3-5 hari. Pada proses peradangan fase seluler awal sel pertama yang secara klinis tertarik ke daerah radang adalah *Polymorfonuclear* (PMN) (Yuwono, 2001: 5). Tabel 1 menunjukkan adanya penurunan jumlah PMN dari perlakuan 1 (kontrol positif) ke perlakuan 2 (perlakuan). Penurunan ini mungkin disebabkan oleh karena masa paruh PMN yang singkat, neutrofil tidak akan melampaui umur 24-48 jam atau mungkin oleh karena aktivitas fagositosis makrofag. Monosit akan mengganti neutrofil dalam waktu 48 jam (Bellanti, 1993: 24). Radang kronis akan terjadi sesudah radang akut dan menunjukkan usaha tubuh untuk melokalisir agen penyebab dan memperbaiki kerusakan yang terjadi. Sel-sel yang berperan bisa berasal dari darah atau jaringan setempat yaitu limfosit dan makrofag yang memiliki fungsi menghilangkan debris dan PMN yang mati (Lawler, 1992).

Sari buah mengkudu yang diberikan secara intragastrik pada tikus Wistar akan masuk ke lambung tikus. Buah mengkudu mengandung berbagai enzim alami *sefitonutrien* (termasuk vitamin dan mineral) dan *alkaloid proxeronine* yang akan membantu dalam penyediaan *xeronine*. *Xeronine* ini dihasilkan ketika asam lambung yang sedang mencerna (termasuk sari buah mengkudu) menghancurkan *proxeronine* sampai menjadi *xeronine*. Hasil proses itu memungkinkan mengkudu mengobati tubuh orang kontradiktif. Pada penderita tekanan darah tinggi mengkudu menurunkan tekanan darah menjadi normal, sedangkan pada penderita tekanan darah rendah, mengkudu membantu meningkatkannya agar normal

kembali. Buah mengkudu berperan sebagai adaptogenik yang menyeimbangkan fungsi sel-sel tubuh (Waspodo, 2002 : 1-2).



Gambar 7. Hubungan komponen humoral dan elemen seluler di dalam air liur, cairan celah gusi dan cairan rongga mulut (Roeslan, 2002 : 117).

Menurut dr. Mona Harrison dari Fakultas Kedokteran Boston, sari buah mengkudu akan membantu penyediaan *xeronine* yang menolong memperbaiki tugas kelenjar tiroid dan kelenjar timus (Sjabana, 2002 : 16). Keduanya penting untuk kekebalan tubuh dan perlawanan menghadapi dari luar (Anonim, 2002 : 1). Sistem kekebalan tubuh atau imunitas yaitu melalui sekresi lokal dan sistemik antibodi serum serta melalui imunitas seluler, baik lokal maupun sistemik. Respon imun di rongga mulut melewati 3 kompartemen cairan yang satu dengan lainnya berhubungan, yaitu air liur, cairan celah gusi (gingiva) dan darah (Roeslan, 2002 : 117).

Perbandingan respons imun yang terdapat di dalam domain air liur dan domain gusi disajikan pada tabel 7. Air liur disekresikan oleh kelenjar-kelenjar parotis, submandibularis, submaksilaris dan beberapa kelenjar kecil pada permukaan mukosa. Epitel junctional yang terletak celah gusi berguna untuk memahami hubungan biologik antara komponen vaskuler dan struktur periodontal. Komponen seluler dan humoral dari darah dapat melewati epitel junctional yang terletak pada celah gusi dalam bentuk cairan celah gusi. Pada

keadaan normal cairan celah gusi yang mengandung leukosit ini akan melewati epitel junctional menuju ke permukaan gigi. Aliran cairan ini akan meningkat bila terjadi gangguan pada host (Roeslan, 2002 : 117).

Pada jaringan gusi terdapat berbagai komponen seluler dan humoral seperti PMN neutrofil, makrofag, limfosit dan sel plasma. Komponen komplemen yang ditemukan di dalam air liur adalah C3 yang sebagian besar berasal dari cairan celah gusi. Komponen seluler yang banyak ditemukan di dalam air liur adalah leukosit. Diperkirakan migrasi leukosit sekitar satu juta per menit melalui air liur. Asal leukosit ini dari cairan celah gusi sekitar 98-99% berupa PMN neutrofil, sisanya terdiri atas limfosit, monosit dan eosinofil. Elemen seluler yang paling banyak ditemukan adalah PMN neutrofil yaitu sekitar 92%. Komposisi komponen imun dan cairan celah gusi mengandung banyak komponen seluler dan humoral yang juga ditemukan di dalam darah. Komponen imun yang ada di dalam celah gusi juga berfungsi dalam mekanisme pertahanan untuk gigi-geligi. Pada keadaan gingivitis, kelainan periodontal atau gangguan imunitas pada host PMN di dalam cairan celah gingiva kadarnya meningkat. Diperkirakan proses fagositosis, reaksi antigen-antibodi yang tergantung komplemen dan juga respons CMI terjadi di dalam celah gusi di dalam rongga mulut. PMN neutrofil akan menghancurkan antigen melalui lisosom. PMN neutrofil ini berasal dari jaringan gingiva yang sudah disuapi antigen. Proses ini dapat mengatasi apabila ada gangguan host dari paparan *Candida albicans* (Roeslan, 2002 : 111-120).

Mengkudu dengan kandungannya *anthraquinon* dan *scopoletin* dapat berfungsi sebagai anti jamur misalnya mengatasi paparan *Candida albicans* yang terjadi di dalam tubuh dengan sifat antiseptiknya yaitu membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme agar tidak terjadi infeksi yang berkepanjangan. *Anthraquinone* berfungsi sebagai anti bakteri dan anti jamur. Kandungan ini dapat merangsang enzim-enzim. Diduga salah satu enzim tersebut merupakan enzim yang berfungsi untuk mematikan sel-sel pertahanan tubuh atau meningkatkan sel-sel pertahanan tubuh (Sjabana, 2002 : 16).

*Scopoletin* ( $C_{10}H_8O_4$ ) adalah suatu zat pertumbuhan nabati yang pertama kali ditemukan pada tanaman. Zat ini juga berfungsi sebagai anti inflamasi

(Anonim, 2002 : 3). *Scopoletin* mempunyai efek adaptogenik sama dengan *xeronine* disebut “**Teori Heinicke-Solomon**”. Dalam hal ini mengkudu dapat memegang peranan khusus dalam mekanisme yang dijelaskan pada sistem imun untuk menurunkan atau menaikkan peran sel-sel kekebalan tubuh maka *scopoletin* akan mengirimkan zat-zat tersebut agar dapat tercapai keseimbangan fungsi tubuh yang disebut sebagai fungsi adaptogenik (Sjabana, 2002 : 39-41).

Mengkudu dengan kandungan *nitric oxide* mempunyai peranan dalam inflamasi akut dan kronis. Pada infeksi *Candida albicans* terjadi inflamasi akut, penghambat NOS punya efek protektif yang bergantung pada dosis pemberian sehingga NO mampu meningkatkan permeabilitas vaskular yaitu sebagai inhibitor adhesi neutrofil (PMN) pada endotel vaskuler (Sjabana, 2002 : 42). mengakibatkan jumlah PMN berkurang meskipun jumlah PMN tidak menurun drastis.

Asam benzoate berfungsi sebagai fungistatik dengan cara menghambat sintesis asam folat jamur (FKUI, 1995 : 142). Asam folat ini sangat penting untuk metabolisme jamur sehingga dengan adanya hambatan pada sintesis asam folat akan menyebabkan kerusakan pada sel jamur. Jumlah PMN yang terjadi pada keadaan dipapar *Candida albicans* akan mengalami penurunan terlihat pada kelompok perlakuan (*Candida albicans* + Mengkudu) sebagai akibat banyaknya jamur yang lisis sehingga PMN dapat digunakan sebagai tanda menurunnya infeksi jamur *Candida albicans* (Dewanti, 2003 : 15).

## BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian secara eksperimental laboratoris dan analisa statistik tentang pemberian perasan mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) 100% terhadap jumlah PMN pada jaringan gingiva tikus Wistar jantan yang dipapar *Candida albicans* dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara ketiga kelompok perlakuan dan terjadi penurunan jumlah PMN pada jaringan gingiva tikus Wistar yang dipapar *Candida albicans*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diberikan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang efek dari mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) 100% terhadap infeksi lain yang terjadi di rongga mulut.
2. Perlu adanya penelitian yang lebih lanjut mengenai cara menghilangkan bau yang tidak enak pada mengkudu, pemberian madu atau essence kue dapat mengatasi hal tersebut.
3. Perlu diadakan penelitian yang lebih lanjut tentang efek mengkudu dibandingkan dengan obat anti jamur.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2002. *Penyembuhan dengan Mengkudu*. Diambil dari <http://www.jusmengkudu.com/sembuh.html>. Diakses tanggal : 3 Juni 2003 : 1-3.
- Astuti, Maria. 1994. *Metodologi Statistik Kedokteran Program Pasca Sarjana Bidang Ilmu Kedokteran Gigi*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press : 57.
- Baratawidjaja, Karnen Garna, 2002. *Immunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia : 208.
- Bellanti Laurence, J. A. M. D, 1993. *Immunologi III*, Penerjemah A. Samik W. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada : 18, 21, 24, 350-351.
- Boedina, S.K.1993. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi 3. Jakarta : FKUI : 56.
- Dewanti, IDA Ratna. 2003. *Keandalan Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Dalam Mempengaruhi Titer Serum Ig G Pada Tikus Yang Dipapar Candida albicans*. Dalam Kumpulan Laporan Penelitian. FKG Universitas Jember. Hal : 15.
- Djambhuri, Agus. 1995. *Sinopsis Farmakologi dengan Terapan Khusus di Klinik dan Perawatan*. Jakarta : Hipokrates : 24.
- Farah C.S. 2001. *Sinar Radiasi Menyebabkan Candidiasis Oral Pada Penelitian Model Murine*. Dalam Jurnal Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Microbiol Immune, 2001 ; 16. p: 358-363. Munksgoard, 2001.
- FK UNSRI. 1994. *Catatan Kuliah Farmakologi Bagian I*. Jakarta : EGC : 76-77.
- FKUI. 1995. *Farmakologi Dan Terapi*. Jakarta: Gaya Baru : 438, 439, 142, 680.
- Guyton, Arthur C. 1976. *Fisiologi Manusia*. Jakarta: EGC : 91-92, 95.
- Guyton, Arthur C. 1991. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Jakarta: EGC : 54-55.
- Haskell, R. dan J.J. Gayford. 1990. *Penyakit Mulut*. Edisi II. Terjemahan Lilian Yuwono dari Clinical Oral Medicine (1979). Jakarta: EGC : 58-59.
- Isenberg H.B., 1996. *Clinical Microbiology Procedure Handbook*. Vol. 2. ASM.

- Jawetz, E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Edi Nugroho dari Medical Microbiology. Jakarta: EGC : 627-629.
- Johnson, Kurt E. Ph.D. 1994. *Histologi dan Biologi Sel*. Alih bahasa: Dr.F.Arifin Gunawijaya M.S. 1<sup>st</sup>. Jakarta: Binarupa Aksara : 159.
- Junqueira, Luis C dan Jose Caneiro. 1989. *Histologi Dasar*. Ed. 13. Jakarta: EGC : 259-264.
- Junqueira, Luis C dan Jose Caneiro. 1997. *Histologi Dasar*. Jakarta: EGC : 546.
- Katzung, Bertram G. 2001. *Farmakologi : Dasar dan Klinik*. Jakarta : Salemba Medika : 488-491, 580.
- 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 : 68.
- Lawler, W Ali Ahmed dan William J. Hume. 1992. *Buku Pintar Patologi Klinik Kedokteran Gigi*. Alih bahasa: Agus Jaya. Jakarta : EGC : 9.
- Lehner, Thomas. 1995. *Imunologi Pada Penyakit Mulut*. Alih bahasa: Ratna Farida, N.G. Suryadhana. Jakarta : EGC : 116-119.
- Lynch, M.A. Brightman, V.J. Greenberg, M.S. 1993. *Ilmu Penyakit Mulut*. Terjemahan Sianita Kurniawan. Jakarta : Binarupa Aksara : 268-276.
- Marwati, E. 2000. *Penatalaksanaan Kandidiasis Rongga Mulut Secara Umum Beserta Alternatifnya*. Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi. FKG USAKTI (No.42. Desember). Jakarta : FKG USAKTI : 138.
- Ne, R.F., Witherspoon, D.E., Guthman, J.L., 1999., *Tooth Resorption*, Quintessence Int, 30. p: 9-25.
- Nolte, A.W. 1982. *Oral Microbiology With Basic Microbiology and Immunology*. 4<sup>th</sup> edition. St. lois. Toronto. London: CV. Mosby Company. p: 524.
- Nugroho. 2002. *Anti Inflamasi Non Steroid Penghambat Siklooksigenase-2 Sebagai Analgesik dan Anti Inflamasi yang Aman*. Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi (Edisi Khusus FORIL). Volume 3. Jakarta : 484-485.
- Purbaya, Rio J. 2002. *Mengenal Dan Memanfaatkan Khasiat Buah Mengkudu*. Bandung: CV. Pionir Jaya : 19, 40, 73.
- Robins dan Kumar. 1992. *Buku Ajar Patologi I*. Jakarta: EGC : 29.



- Roeslan, Budi Oetomo. 2002. *Imunologi Oral*. Edisi 1. Jakarta: Balai Penerbit FKUI : 111-200.
- Rukmana, Rahmat. 2002. *Mengkudu Budi Daya dan Prospek Agribisnis*. Ed 1. Yogyakarta: Kanisius : 16, 18, 19, 25-27.
- Sibuea, P. 2000. *Khasiat Buah Mengkudu Bagi Kesehatan*. [Http://noniinfo.freeyellow.com/noni.html](http://noniinfo.freeyellow.com/noni.html). Diakses 24 November 2003 : 1-4.
- Sjabana, D.Dr., Bahalwan, R.R., Dr. Mkes. 2002. *Pesona Tradisional dan Ilmiah Mengkudu *Morinda citrifolia* L.* Ed 1. Jakarta: Salemba Medika : 4-42.
- Soekamto, Soengeng. 1996. *Peranan Patologi Anatomi Dalam Menegakkan Diagnostik Penyakit*. Surabaya: Fakultas Kedokteran UNAIR : 45.
- Sulistiyani, Erna. 2002. *Peningkatan Apoptosis dan Ekspresi P<sup>53</sup> Pada Sel Asinar Kelenjar Parotis Sebagai Dasar Patogenesis Xerostomia Pada Terapi Radiasi*. Dalam Tesis FKG Universitas Airlangga Surabaya.
- Supriatno. 1999. *Potensi Hambat Ekstrak Etanol *Alpinia galanga* Varietas Rubuo Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* dan Biokompatibilitasnya*. Dalam Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi (Edisi Khusus Volume 2). Jakarta: FKG USAKTI : 324.
- Teichert, J.W. Jones, Usacheva, Biel. 2002. *Treatment of Oral Candidiasis With Blue-Mediated Photodynamic Therapy in an immunodeficient Murine Model*. Dalam Jurnal Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology Endodontic, 2002 ; 93. p : 155-160.
- Thompson, AD dan RE Cotton. 1997. *Pathology*. Terjemahan RF. Maulany. Jakarta : EGC : 27-30.
- Uthman, Margareth. 2001. *Hematopoietic System*. Diambil dari [Http://www.peripheralblood.com](http://www.peripheralblood.com). Diakses tanggal 21 Oktober 2003. p: 1-4.
- Volk, W. A., D.C Benjamin, R.Jkadner, J.T Parsons. 1982. *Essential of Medical Microbiology*. 3<sup>rd</sup> edition. Philadelphia: J.B Lippincott Company. p: 536.
- Wattimena, J.R. 1993. *Laboratorium Farmakologi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung : 5-19.
- Wijayakusuma, Hembing. 2001. *Penyembuhan dengan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)*. Jakarta: Milenia Populer : 12-14, 77.

Wijayakusuma, Hembing, Setiawan Dalimartha dan A.S. Wirian. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*. Jilid ke-4. Jakarta: Pustaka Kartini : 26.

Wirawan dan Silman. 1992. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana*. Jakarta: FK UI Press.

Yuwono, Budi, Purwanto, Mei S., Masniari N. 2000. *Buku Ajar Bedah Mulut I*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember : 5.



## Lampiran 1. Tahap Pembuatan Sediaan.

## TAHAP PEMBUATAN SEDIAAN

- Melakukan proses fiksasi, dehidrasi, Clearing dan impregnasi dengan mencelupkan jaringan ke dalam larutan seperti tertera di bawah ini sesuai waktu yang ditentukan

Tabung	Larutan	Waktu	Proses
1.	Formalin buffer 10 %	2 jam	Fiksasi
2.	Alkohol 70 %	1 jam	Dehidrasi
3.	Alkohol 80 %	2 jam	Dehidrasi
4.	Alkohol 95 %	2 jam	Dehidrasi
5.	Alkohol 96 % + crusi	2 jam	Dehidrasi
6.	Alkohol 96 % + crusi	1 jam	Dehidrasi
7.	Alkohol 96 % + crusi	2 jam	Dehidrasi
8.	Xylol	1 jam	Clearing
9.	Xylol	2 jam	Clearing
10.	Xylol	2 jam	Clearing
11.	Parafin Cair (58 <sup>0</sup> -60 <sup>0</sup> C)	2 jam	Impregnasi
12.	Parafin Cair (58 <sup>0</sup> -60 <sup>0</sup> C)	2 jam	Impregnasi

- Embedding dan pemotongan dengan mikrotom
  - Alat cetak yang terbuat dari logam berbentuk siku-siku disusun di atas permukaan kaca. Alat dan alas kaca diolesi gliserin untuk memudahkan pemisahan alat cetak dengan blok parafin yang sudah beku dan kaca.
  - Parafin cair dalam dua wadah, yaitu parafin untuk bahan *embedding* dan parafin sebagai media penyesuaian temperatur yang akan ditanam.
  - Parafin cair pada tempat I dituangkan ke dalam alat cetak hingga penuh pada permukaannya, lalu jaringan ditanam pada posisi yang sesuai dan bagian permukaan jaringan yang menempel pada kaca diusahakan rata.

- Jika parafin sudah cukup keras, alat cetak dilepaskan dan blok parafin diberi label dan siap disayat.
- Blok parafin ditempelkan pada alat pemegangnya yang berupa lempengan logam yang sudah dipanasi. Perhatikan sisi blok mana yang akan dipotong, kemudian didinginkan sampai suhu kamar agar melekat erat.
- Pisau mikrotom dipasang pada pegangannya membentuk sudut  $5^{\circ}$ - $10^{\circ}$ . Pisau harus tajam dan permukaannya harus benar-benar rata.
- *Water bath* dipersiapkan dengan mengatur suhu air dibawah titik leleh parafin ( $+48^{\circ}\text{C}$ ).
- Blok yang sudah menempel pada pemegangnya dipasang pada mikrotom dan siap dilakukan pemotongan tipis dengan ketebalan yang dikehendaki, biasanya 4-8 mikron.
- Hasil pemotongan berupa pita tipis dengan hati-hati dipindahkan ke dalam *water bath* agar sayatan jaringan dapat mengembang dengan baik.
- Sayatan diseleksi dan dipindahkan ke atas kaca obyek yang telah diolesi Polilisin sebagai bahan perekat dan diberi label sesuai label pada blok.
- Sediaan dibiarkan kering dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu  $58^{\circ}\text{C}$ - $60^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Dan jaringan siap dicat (Sulistiyani, E, 2002).

Sumber : Tesis, drg. Erna Sulistiyani.

**Lampiran 2. Tahap Pengecatan****TAHAP PENGECATAN**

Pada pengecatan sediaan histologis dilakukan pewarnaan progresif menggunakan Haematoxylin Meyer, dimana hanya inti sel yang tercat biru, sedangkan latar belakang tidak. Adapun proses pewarnaan progresif adalah seperti tabel di bawah ini.

Proses	Larutan	Waktu
Deparafinisasi	Xylol	15 menit
	Xylol	15 menit
Hidrasi	Alkohol 96%	2 menit
	Alkohol 95%	2 menit
	Alkohol 80%	2 menit
	Air mengalir	10 menit
Cat utama	Haematoxylin Meyer	10 menit
	Air mengalir	15 menit
Cat pembeding	Eosin	1,5 menit
Dehidrasi	Alkohol 80%	5 celup
	Alkohol 95%	5 celup
	Alkohol 86%	2 menit
Dikeringkan		1 menit
Clearing	Xylol	10 menit
	Xylol	5 menit
Mounting	Entelallan	5 menit

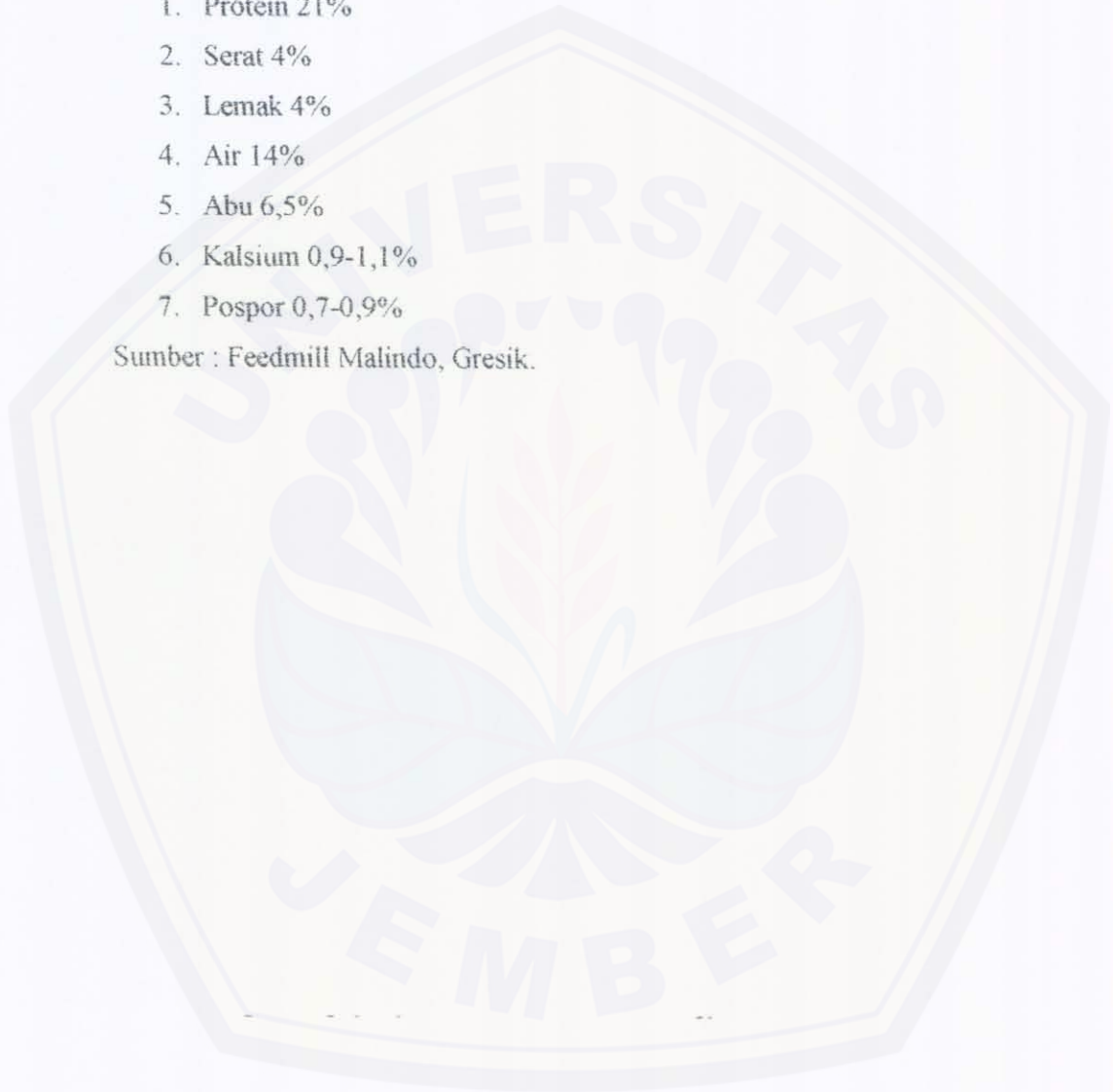
Sumber : Soegeng Soekamto, 1996 : 45.

**Lampiran 3. Makanan Standart Tikus****MAKANAN STANDART TIKUS**

Makanan standart untuk tikus yang digunakan dalam penelitian ini memiliki komposisi sebagai berikut:

1. Protein 21%
2. Serat 4%
3. Lemak 4%
4. Air 14%
5. Abu 6,5%
6. Kalsium 0,9-1,1%
7. Pospor 0,7-0,9%

Sumber : Feedmill Malindo, Gresik.



**Lampiran 4. Penghitungan Besar Sampel.**

Besar sampel ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$n_i = \left[ \frac{1}{1-f} \right] \left[ \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 (Sc)^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2} \right]$$

Keterangan:  $n_i$  = Jumlah sampel

$\bar{x}_1$  = Nilai rata-rata kelompok kontrol

$\bar{x}_2$  = Nilai rata-rata kelompok perlakuan

$Z\alpha$  5% = 1,96

$Z\beta$  10% = 1,28

$Sc$  = Simpangan baku kelompok kontrol

$f$  = Proporsi kegagalan 5% = 0,05

(Higgins,1985)

$$n_i = \left[ \frac{1}{1-0,05} \right] \left[ \frac{2(1,96+1,28)^2 \times (0,56)^2}{(6,33 - 7,77)^2} \right]$$

$$n_i = \left[ \frac{1}{0,95} \right] \left[ \frac{2(10,4976)(0,31)}{(1,43)^2} \right]$$

$$n_i = \left[ \frac{1}{0,95} \right] \left[ \frac{6,51}{2,04} \right]$$

$$n_i = 1,053 \left[ \frac{6,51}{2,04} \right]$$

$$n_i = 3,36$$

Besar sampel 3,36 dibulatkan menjadi 4, jadi minimal besar sampel penelitian adalah 4. Penelitian ini menggunakan besar sampel 5, jadi sudah memenuhi persyaratan diatas.

$$n = \left[ \frac{2\sigma^2 \left( Z_{\frac{1}{2}\alpha} + Z_{\beta} \right)^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2} \right]$$

- Keterangan:  $n$  = Jumlah sampel masing-masing kelompok  
 $\sigma$  = Standart deviasi pada kelompok kontrol  
 $Z_{\frac{1}{2}\alpha}$  = 1,96 (untuk  $\alpha = 0,05$ )  
 $Z_{\beta}$  = 0,84 (untuk  $\beta = 0,20$ )  
 $\mu_1$  = Nilai rata-rata kelompok kontrol  
 $\mu_2$  = Nilai rata-rata kelompok perlakuan

$$n = \left[ \frac{2(0,56)^2 (1,96 + 0,84)^2}{(6,33 - 7,77)^2} \right]$$

$$n = \left[ \frac{2(0,31)(7,84)}{2,04} \right]$$

$$n = \left[ \frac{4,86}{2,04} \right]$$

$$n = 2,38$$

Besar sampel 2,38 dibulatkan menjadi 3, jadi minimal besar sampel penelitian adalah 3. Penelitian ini menggunakan besar sampel 5, jadi sudah memenuhi persyaratan diatas.



Lampiran 5. Foto Alat Penelitian.



Gambar 8. Foto Mikrotom.



Gambar 9. Foto Inkubator.





Gambar 13. Foto Bahan Penelitian.

Keterangan bahan :

1. Cat HE.
2. Minyak Emersi.
3. Entelan.
4. Parafin.
5. Aquades.
6. Formalin.
7. Xylol.
8. Alkohol absolut.
9. *Candida albicans*



**Lampiran 7. Penghitungan Dosis Konversi Mengkudu.**

Dosis konversi manusia ke tikus	= 0,018
Dosis maksimal mengkudu per hari pada manusia	= 250 ml
Dosis mengkudu yang diberikan pada tikus	= 250 ml x 0,018
	= 4,5 ml.

(Sumber : Wattimena, 1993 : 19).

**LAMPIRAN 8. Jumlah PMN Per Lapangan Pandang**

a. Kontrol Positif.

C. albicans (1)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	4	5	6	5	5	25
2	8	6	7	7	4	32
3	6	5	6	5	6	28
4	7	6	4	5	6	28
5	5	7	7	4	5	28
jumlah	30	29	30	26	26	141

5.64

b. Perlakuan.

MC (1)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	6	7	4	4	5	26
2	7	3	5	4	4	23
3	6	4	4	3	5	22
4	5	3	4	3	4	19
jumlah	24	17	17	14	18	90

4.5

c. Kontrol Negatif.

Kontrol (1)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	6	4	4	3	3	20
2	4	4	5	4	4	21
3	5	3	4	3	4	19
4	3	5	3	4	4	19
jumlah	18	16	16	14	15	79

3.95

C. albicans (2)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	6	7	4	4	5	26
2	7	6	7	6	6	32
3	6	5	4	4	8	27
4	7	6	5	5	6	29
5	6	4	5	5	6	26
jumlah	32	28	25	24	31	140

5.6

MC (2)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	6	6	5	6	5	28
2	3	5	5	5	6	24
3	7	6	5	6	6	30
4	7	4	4	5	6	26
jumlah	23	21	19	22	23	108

5.4

Kontrol (2)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	5	3	3	4	5	20
2	3	4	3	4	3	17
3	4	3	3	5	3	18
jumlah	12	10	9	13	11	55

3.6667

C. albicans (3)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	4	6	5	4	5	24
2	6	5	7	5	4	27
3	7	4	4	5	8	28
4	4	4	5	7	5	25
5	6	7	4	5	5	27
jumlah	27	26	25	26	27	131

5.24

MC (3)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	6	4	6	6	5	27
2	6	4	5	5	4	24
3	4	5	4	5	3	21
4	5	5	4	5	4	23
jumlah	21	18	19	21	16	95

4.75

Kontrol (3)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	4	6	4	4	5	23
2	5	4	4	3	3	19
3	4	3	5	3	4	19
4	3	4	6	3	3	19
5	4	3	5	4	3	19
jumlah	20	20	24	17	18	99

3.96

C. albicans (4)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	4	5	6	7	4	26
2	6	6	4	7	4	27
3	7	5	5	4	8	29
4	6	4	5	5	5	25

MC (4)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	4	3	5	6	5	23
2	5	7	6	6	4	28
3	6	4	5	3	4	22
4	4	3	5	4	4	20

Kontrol (4)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	5	4	4	3	3	19
2	4	4	3	4	4	19
3	4	5	3	3	3	18
4	3	4	5	3	3	18

juml	28	26	24	31	25	134
						5.36

C.aibicans (5)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	4	5	6	7	4	26
2	6	6	4	7	4	27
3	7	5	5	4	8	29
4	6	4	5	5	5	25
5	5	6	4	8	4	27
juml	28	26	24	31	25	134
						5.36

juml	17	16	20	21	23	99
						4.95

Me (5)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	4	5	6	5	6	26
2	4	4	5	6	6	25
3	5	5	5	4	5	24
4	4	4	4	6	6	24
juml	17	16	20	21	23	99
						4.95

juml	23	20	16	19	20	98
						3.92

Kontrol (5)

Pot. Jar	Lap. Pandang					jumlah
	1	2	3	4	5	
1	6	4	3	3	3	19
2	5	4	3	4	4	20
3	3	4	4	5	5	21
4	5	4	3	3	4	19
5	4	4	3	4	4	19
juml	23	20	16	19	20	98
						3.92

Metode Arah dan Uji LSD.

Descriptives

Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean			Minimum	Maximum
			Lower Bound	Upper Bound	Mean		
3.8274	.1331	5.951E-02	3.6622	3.9926	3.67	3.95	
5.4400	.1720	7.694E-02	5.2264	5.6536	5.24	5.64	
4.8500	.3482	.1557	4.4176	5.2824	4.50	5.40	
4.7058	.7237	.1868	4.3051	5.1065	3.67	5.64	

ances

Sig.	.163
------	------

ANOVA

df	Mean Square	F	Sig.
2	3.329	59.242	.000
12	5.619E-02		
14			

Lampiran 9. Hasil Uji Anova  
1. Oneway

Multiple Comparisons

telah 10 Hari

(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Candida albicans	-1.6126*	.1499	.000	-2.0126	-1.2126
Mengkudu+C albicans	-1.0226*	.1499	.000	-1.4226	-.6226
Kontrol	1.6126*	.1499	.000	1.2126	2.0126
Mengkudu+C albicans	.5900*	.1499	.005	.1900	.9900
Kontrol	1.0226*	.1499	.000	.6226	1.4226
Candida albicans	-.5900*	.1499	.005	-.9900	-.1900
Candida albicans	-1.6126*	.1499	.000	-1.9392	-1.2860
Mengkudu+C albicans	-1.0226*	.1499	.000	-1.3492	-.6960
Kontrol	1.6126*	.1499	.000	1.2860	1.9392
Mengkudu+C albicans	.5900*	.1499	.002	.2634	.9166
Kontrol	1.0226*	.1499	.000	.6960	1.3492
Candida albicans	-.5900*	.1499	.002	-.9166	-.2634

t at the .05 level.

Jumlah PMN Setelah 10 Hari

	N
Kontrol	5
Candida albicans	5
Mengkudu+C albicans	5
Total	15

Test of Homogeneity of Var

Jumlah PMN Setelah 10 Hari

Levene Statistic	df1	df2
2.122	2	12

Jumlah PMN Setelah 10 Hari

	Sum of Squares
Between Groups	6.67
Within Groups	6.64
Total	7.331

2. Post Hoc Tests

PMN Setelah 10 Hari

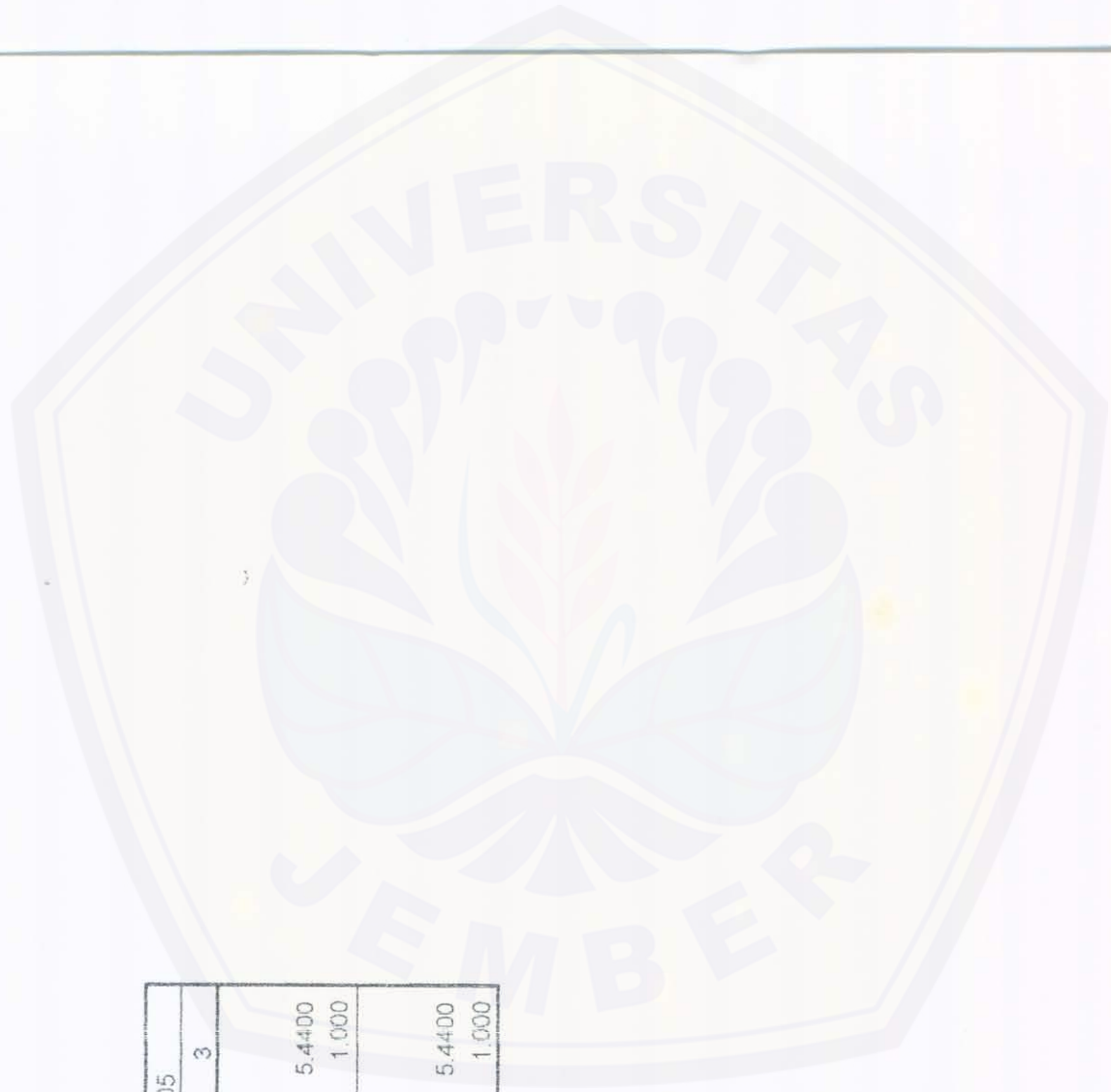
N	Subset for alpha = .05		
	1	2	3
5	3.8274		
5		4.8500	
5			5.4400
	1.000	1.000	1.000
5	3.8274		
5		4.8500	
5			5.4400
	1.000	1.000	1.000

osets are displayed.  
ze = 5.000.

Dependent Variable: Jumlah PMN S

Tukey HSD		(I) Perlakuan
		Kontrol
		Candida albicans
		Mengkudu+Candida
LSD		Kontrol
		Candida albicans
		Mengkudu+Candida

\*. The mean difference is significant.





Kolmogorov-Smirnov Test

	Kontrol	Candida albicans	Mengkudu +Candida albicans
	5	5	5
on	3,8274 .1331 .307 .231 -,307 .687 .732	5,4400 .1720 .279 .279 -,224 .624 .831	4,6500 .3482 .213 .213 -,157 .476 .977

3. Homogeneous Subset

Jumlah

Perlakuan	Jumlah
Tukey HSD <sup>a</sup>	
Kontrol	
Mengkudu+Candidans	
Candida albicans	
Sig.	
Duncan <sup>a</sup>	
Kontrol	
Mengkudu+Candidans	
Candida albicans	
Sig.	

Means for groups in homogeneous subsets

a. Uses Harmonic Mean Sample Size