

KK
KKA
TKR - 01/11
Pur
a

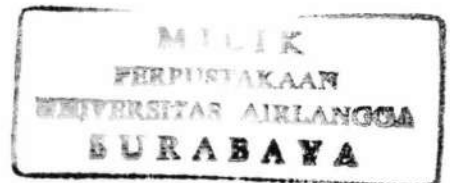
TESIS

**AKTIFITAS EKSTRAK DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* Juss)
TERHADAP JUMLAH BLASTOSPORA, PSEUDOHIFA,
KOLONI *Candida albicans* DAN SEL MAKROFAG PADA
KANDIDIASIS VAGINALIS**

Penelitian Eksperimental Laboratoris
Pada Hewan Coba *Rattus norvegicus*



DWI PURWANTI



**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2010

TESIS

**AKTIFITAS EKSTRAK DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* Juss)
TERHADAP JUMLAH BLASTOSPORA, PSEUDOHIFA,
KOLONI *Candida albicans* DAN SEL MAKROFAG PADA
KANDIDIASIS VAGINALIS
Penelitian Eksperimen Laboratoris
Pada Hewan Coba *Rattus norvegicus***

DWI PURWANTI
NIM. 090710285M

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010**

**AKTIFITAS EKSTRAK DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* Juss)
TERHADAP JUMLAH BLASTOSPORA, PSEUDOHIFA,
KOLONI *Candida albicans* DAN SEL MAKROFAG PADA
KANDIDIASIS VAGINALIS**

Penelitian Eksperimen Laboratoris
Pada Hewan Coba *Rattus norvegicus*

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga**

DWI PURWANTI
NIM. 090710285M

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

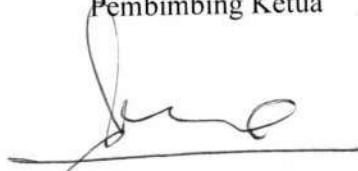
Tanggal 14 Januari 2010

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL, 28 Desember 2009

Oleh

Pembimbing Ketua



Dr. Hendy Hendarto, dr.,SpOG (K)
NIP. 140 207 243

Pembimbing



Dr. Widjiati, M.Si.,drh.
NIP. 131 877 882

Mengetahui,

Ketua

Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga



Prof. Dr. Erry Gumilar Dachlan, dr.,SpOG (K)
NIP. 140 092 103

Telah diuji pada

Tanggal : 14 Januari 2010

PANITIA PENGUJI TESIS :

Ketua : Prof. Dr. Erry Gumilar Dachlan, dr., SpOG(K).

Anggota : 1. Dr. Hendy Hendarto, dr., SpOG(K).
2. Dr. Widjiati, M.Si., drh.
3. Dr. Bambang Prajogo, EW., M.S.
4. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala Rahmat, Hidayah dan KaruniaNya sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada yang terhormat Dr. Hendy Hendaro, dr., SpOG (K)., selaku pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan serta saran hingga terselesainya penulisan tesis ini.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada yang terhormat Dr. Widjiati, M.Si., drh., selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan serta arahan hingga penulisan tesis ini selesai.

Selain itu terselesainya tesis ini juga tidak terlepas dari bantuan dan kerja sama dari berbagai pihak, oleh karenanya perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. Rektor Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. H. Fasich, Apt., atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister.
2. Ketua Tim Koodinasi Program Studi Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Harjanto JM., dr., AIFM., yang telah memberikan kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
3. Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Program Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Erry Gumilar Dachlan, dr., SpOG (K)., yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan selama proses pendidikan serta dalam penyusunan tesis ini.
4. Para dosen di peminatan Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Program Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya atas segala bantuannya selama proses pendidikan serta dalam penyusunan tesis ini.
5. Direktur Politeknik Kesehatan Surabaya yang telah memberikan kesempatan dan bantuan pada saya untuk mengikuti tugas belajar di Program Magister Universitas Airlangga Surabaya.
6. Ketua Jurusan Kebidanan Politeknik Kesehatan Surabaya yang telah memberi kesempatan mengikuti tugas belajar di Program Magister Universitas Airlangga Surabaya.
7. Ketua Program Studi Kebidanan beserta semua teman dosen yang telah memberi dorongan dan perhatian pada saya selama mengikuti tugas belajar di Program Magister Universitas Airlangga Surabaya.
8. Dekan dan Ketua Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya beserta staf yang telah memberi kesempatan dan fasilitas kepada saya selama proses penelitian.

9. Kepala beserta seluruh staf Laboratorium Mikrobiologi dan In Vitro Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberi kesempatan dan fasilitas kepada saya selama proses penelitian.
10. Kepala Laboratorium Waluyo Djati Surabaya sekaligus dosen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dr. Arthur Pohan K., M.Kes, SpMK., yang telah memberi bantuan dan fasilitas kepada saya selama proses penelitian.
11. Bapak, ibu, kedua mertuaku, suami dan ketiga anakku tersayang Cendy, Rizqi dan Rafli yang penuh rasa kasih sayang dan perhatian selalu memberi dorongan, semangat dan bantuan baik moril maupun materiil serta do'a restu pada saya selama proses pendidikan hingga terselesainya tesis ini.

Semoga Allah Yang Maha Kuasa selalu melimpahkan taufik dan hidayahNya kepada kita sekalian. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, walaupun saya menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahannya, sehingga kritik dan saran sangat saya harapkan demi kesempurnaan tesis ini.

Surabaya, Januari 2010

RINGKASAN

**AKTIFITAS EKSTRAK DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* Juss)
TERHADAP JUMLAH BLASTOSPORA, PSEUDOHIFA, KOLONI *C albicans*
DAN SEL MAKROFAG PADA KANDIDIASIS VAGINALIS
(Penelitian Eksperimental Laboratoris Hewan Coba *Rattus norvegicus*)**

Salah satu penyebab keputihan pada wanita adalah kandidiasis vaginalis, yaitu infeksi jamur pada dinding vagina yang disebabkan terutama *C albicans*. Komplikasi yang dapat terjadi adalah infeksi berulang, pada ibu hamil dapat terjadi kutis kongenital, abortus spontan, kandidiasis intra uteri, korioamnionitis, sepsis, abses otak, peritonitis dan masalah infertilitas. Harga obat anti jamur relatif mahal, menyebabkan masyarakat berpaling ke obat tradisional. Tanaman mimba adalah salah satu tanaman obat tradisional berfungsi sebagai anti jamur dan imunomodulator. Masalah pada penelitian ini bahwa aktifitas ekstrak daun mimba terhadap kandidiasis vaginalis karena *C albicans* belum jelas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan penurunan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan peningkatan jumlah sel makrofag pada hewan coba *Rattus norvegicus* yang vaginanya diinokulasi *C albicans* dan diberi konsumsi ekstrak daun mimba.

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *the pre test – post test control group design*. Jumlah unit eksperimen adalah 30 ekor *Rattus norvegicus* betina, berat 200-250 g, usia 2-3 bulan dilakukan adaptasi 1 minggu, terdapat 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (K-) tidak diinokulasi *C albicans* dan tidak diberi konsumsi ekstrak daun mimba, kelompok kontrol positif (K+) diinokulasi *C albicans* dan diberi konsumsi obat anti jamur flukonazol dosis 0,035 mg/100 g BB/hari, kelompok perlakuan terdiri dari : kelompok P1 diinokulasi *C albicans* dan diberi konsumsi ekstrak daun mimba dosis 19 mg/100 g BB/hari mulai hari ke 7 sampai hari ke 28, kelompok P2 diinokulasi *C albicans* dan diberi konsumsi ekstrak daun mimba dosis 57 mg/100 g BB/hari mulai hari ke 7 sampai hari ke 28, kelompok P3 diinokulasi *C albicans* dan diberi konsumsi ekstrak daun mimba dosis 95 mg/100 g BB/hari mulai hari ke 7 sampai hari ke 28. Masing-masing kelompok dilakukan pengamatan pada hari ke 7 sebelum perlakuan dan hari ke 29 setelah perlakuan dengan cara dilakukan swab pada vagina *Rattus norvegicus* untuk penghitungan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag. Untuk menganalisis perbedaan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag sebelum dan sesudah perlakuan menggunakan *Paired t-test* sedangkan untuk menganalisis perbedaan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag antar kelompok perlakuan menggunakan uji *Anova one way* (variansi data homogen) dan uji *Brown Forsythe* (variansi data tidak homogen) bila signifikan dilanjutkan uji LSD dengan nilai $\alpha = 0,05$. Untuk menganalisis jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag sebelumnya dilakukan uji normalitas data dan homogenitas antar kelompok.

Hasil penelitian dari *Paired t Test* sebelum dan sesudah perlakuan jumlah blastospora semua kelompok menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$), kecuali pada kelompok K- tidak signifikan ($p > 0,05$). Uji *Anova One Way* ($p < 0,05$) terdapat perbedaan penurunan jumlah blastospora akibat pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis berbeda. Uji LSD tidak ada perbedaan antar kelompok K+, P1, P2 dan P3, sedangkan dengan kelompok K-, kelompok-kelompok tersebut menunjukkan perbedaan. Jumlah pseudohifa sebelum dan sesudah perlakuan semua kelompok menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$), kecuali pada kelompok K- tidak signifikan ($p > 0,05$). Uji *Brown Forsythe* ($p > 0,05$) tidak terdapat perbedaan penurunan jumlah pseudohifa akibat pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis berbeda.

Jumlah koloni *C albicans* semua kelompok menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$), kecuali pada kelompok K- tidak signifikan ($p > 0,05$). Uji *Anova One Way* ($p < 0,05$) terdapat perbedaan penurunan jumlah koloni *C albicans* akibat pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis berbeda. Uji LSD didapatkan bahwa tidak ada perbedaan antar kelompok K+, P1, P2 dan P3, sedangkan dengan kelompok K- kelompok-kelompok tersebut menunjukkan perbedaan. Jumlah sel makrofag semua kelompok menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$), kecuali pada kelompok K- tidak signifikan ($p > 0,05$). Uji *Brown Forsythe* ($p < 0,05$) terdapat perbedaan bermakna peningkatan jumlah sel makrofag akibat pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis berbeda. Uji LSD didapatkan ada perbedaan K- dengan P2 dan P3, K+ dengan P3 dan P1 dengan P3. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak daun mimba dapat menurunkan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan meningkatkan jumlah sel makrofag. Untuk mendapatkan hasil yang optimal tentang aktifitas ekstrak daun mimba terhadap pengobatan jamur pada vagina (kandidiasis vaginalis), maka saran yang diberikan adalah : melakukan penelitian tentang senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mimba yang berfungsi sebagai anti jamur, melakukan penelitian pada hewan coba dengan dosis dan waktu pengambilan sampel yang lebih bervariasi, penelitian lebih lanjut tentang daun mimba sebagai obat bersifat imunomodulator yang mempengaruhi respon imun dan melakukan uji toksisitas/efek samping dan uji lapangan penggunaan ekstrak daun mimba perlu dilakukan untuk percepatan aplikasi pada manusia.

SUMMARY

**ACTIVITY OF THE EXTRACT OF MIMBA (*Azadirachta indica* Juss) LEAF
IN THE NUMBER OF BLASTOPORE, PSEUDOHYPHA, *C. albicans*
COLONIES, AND MACROPHAGES IN VAGINAL CANDIDIASIS
(A Laboratory Experimental Study in *Rattus norvegicus*)**

One of the causes of vaginitis in women is vaginal candidiasis, a fungal infection on vaginal wall that is caused by the genus *Candida* sp., particularly *C. albicans*. A common complication of this disease is recurrent infection. In pregnant women, it may cause congenital cutis, spontaneous abortion, intrauterine candidiasis, chorioamnionitis, sepsis, cerebral abscess, peritonitis and problem infertility. However, the price of antifungals is relatively expensive. The patients, therefore, are searching for traditional medications. One of traditional medicines for this disease is the plant *mimba* (*Azadirachta indica* Juss) that has a function as antifungal and immunomodulator. The activity of *mimba* leaf extract on vaginal candidiasis remains unclear. The objective of this study was to prove the reduction of the number of blastopore, pseudohypha, and *C. albicans* colony and the increase of macrophage count in *Rattus norvegicus* whose vagina was inoculated with *C. albicans* and received fluid extract of *mimba* leaf.

This was an experimental study using pretest-posttest control group design. Total experimental units were 30 female *Rattus norvegicus*, with bodyweight of 200-250 g, and age of 2-3 months, adapted for 1 week. There were five groups, divided into negative control group (K-) that was not inoculated with *C. albicans* and received no consumption of *mimba* leaf extract, positive control group (K+) that was inoculated with *C. albicans* and received antifungal consumption of 0.035 mg/100 g BW/day, and treatment groups, which comprised P1 group, inoculated with *C. albicans* and received *mimba* leaf extract in a dose of 19 mg/100 g BW/day from day 7 to day 28, P2 group that was inoculated with *C. albicans* and received *mimba* leaf extract in a dose of 57 mg/100 g BW/day from day 7 to day 28, and P3 group that was inoculated with *C. albicans* and received *mimbra* leaf extract in a dose of 95 mg/100 g BW/day from day 7 to day 28. Each group was observed 7 days pre-treatment and 29 days post-treatment by making swab to the rats' vagina for the counting of blastopore, pseudohypha, *C. albicans* colony, and macrophage. Paired t-test was used to analyze the difference of the number blastopore, pseudohypha, *C. albicans* colony and macrophage before and after treatment. To analyze the difference of the number of blastopore, pseudohypha, *C. albicans* colony and macrophage between treatment groups, we used one-way Anova test (for homogeneous data) and Brown Forsithe test (non-homogeneous data). If the results were significant, it was followed-up with LSD test with alpha value of 0.05. To analyze the number of blastopore, pseudohypha, *C. albicans* colony and macrophage, we performed data normality and between-group homogeneity tests.

The result of paired T-test before and after treatment revealed that blastopore count in all groups had significant difference ($p < 0.05$), except in K- group, it was not significant ($p > 0.05$). The result of one-way Anova test ($p < 0.05$) revealed difference in the reduction of blastopore count due to the administration of *mimba* leaf extract in different doses. LSD test revealed no difference between the groups K+, P1, P2 and P3. Whereas, these groups had difference with K- group. Pseudohypha count before and after treatment in all groups had significant difference ($p < 0.05$), except in K- group it was not significant ($p > 0.05$). The result of Brown Forsythe test revealed $p > 0.05$, indicating no difference in the reduction of pseudohypha count due to the administration of *mimba* leaf extract in different doses.

The number of *C. albicans* colony in all groups showed significant difference, with $p < 0,05$ except in K- group it was not significant with $p > 0.05$. The result of one-way Anova test showed $p < 0.05$, indicating difference in the reduction of the number of *C. albicans* colony due to the administration of *mimba* leaf extract in different doses. LSD test revealed no difference between the groups K+, P1, P2 and P3, while with K- group those groups had difference. Macrophage count in all groups showed significant difference with $p < 0.05$, except in K- group it was not significant with $p > 0.05$. The result of Brown Forsythe test ($p < 0.05$) indicated significant difference in the increase of macrophage count due to the administration of *mimba* extract leaf in different doses. LSD test revealed difference between K- with P2 and P3, K+ with P1 and P3.

In conclusion, the activity of the extract of *mimba* leaf can reduce the number of blastopore, pseudohypha, and *C. albicans* colonies, and can increase macrophage count. To obtain optimum result on the activity of *mimba* leaf extract on the treatment of vaginal candidiasis, it is suggested to perform studies on the compound contained within the ethanol extract of *mimba* leaf that has antifungal function, studies on experimental animals using more varied doses and sampling times, studies on *mimba* leaf as immunomodulatory herbal medicine that affects immune response, and studies on its toxicity and side effects as well as field studies on the use of the extract of *mimba* leaf to enhance its application to human.

ABSTRACT

ACTIVITY OF THE EXTRACT OF MIMBA (*Azadirachta indica* Juss) LEAF IN THE NUMBER OF BLASTOPORE, PSEUDOHYPHA, *C. albicans* COLONIES, AND MACROPHAGES IN VAGINAL CANDIDIASIS (A Laboratory Experimental Study in *Rattus norvegicus*)

The objective of this study was to prove the reduction of the number of blastopore, pseudohypha, and *C. albicans* colonies and the increase of macrophage count in vaginal candidiasis model of *Rattus norvegicus* receiving the extract of *mimba* leaf. There were five groups, divided into negative control group (K-) that was not inoculated with *C. albicans* and received no consumption of *mimba* leaf extract, positive control group (K+) that was inoculated with *C. albicans* and received fluconazol antifungal consumption of 0.035 mg/100 g BW, and treatment groups, P1 group inoculated with *C. albicans* and received *mimba* leaf extract in a dose of 19 mg/100 g BW, P2 group inoculated with *C. albicans* and received *mimba* leaf extract in a dose of 57 mg/100 g BW, and P3 group inoculated with *C. albicans* and received *mimba* leaf extract in a dose of 95 mg/100 g BW. Treatment was given starting from day 7 up to day 28. Each group was observed on day 7 pre-treatment and on day 29 post-treatment by making swab to the rats' vagina for the counting of blastopore, pseudohypha, *C. albicans* colony, and macrophage.

The result of paired T-test revealed that blastopore count had significant difference ($p < 0.05$) except in K- group ($p > 0.05$). The result of one-way Anova test indicated difference between groups ($p < 0.05$). LSD test revealed no difference between the groups K+, P1, P2 and P3. Whereas, these groups had difference with K- group. The result of paired t-test on pseudohypha count showed significant difference ($p < 0.05$), except in K- group. The result of Brown Forsythe test ($p > 0.05$) showed no difference. The result of paired t-test on the number of *C. albicans* colonies showed difference ($p < 0.05$) except in K- group. The result of one-way Anova test ($p < 0.05$) indicated difference between groups. LSD test revealed no difference between the groups K+, P1, P2 and P3, while with K- group those groups had difference. The result of paired t-test on macrophage count showed significant difference ($p < 0.05$), except in K- group ($p > 0.05$). The result of Brown Forsythe test revealed difference ($p < 0.05$) between gorups. LSD test revealed difference between K- with P2 and P3, K+ with P1 and P3.

In conclusion, the extract of *mimba* leaf can reduce the number of blastopore, pseudohypha, and *C. albicans* colonies, and can increase macrophage count. It is suggested to perform studies on the compound contained within the ethanol extract of *mimba* leaf that has antifungal function, studies on experimental animals using more varied doses and sampling times, studies on *mimba* leaf as immunomodulator, and studies on its toxicity and side effects as well as field studies on the use of the extract of *mimba* leaf to enhance its application to human.

Keywords: *Azadirachta indica* Juss, blastospore, pseudohypha, *C. albicans* colony, macrophages



DAFTAR ISI

Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia Penguji.....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Ringkasan.....	viii
Summary.....	x
Abstract.....	xii
Daftar Isi.....	xiii
Daftar Tabel.....	xv
Daftar Gambar.....	xvi
Daftar Lampiran.....	xviii
Daftar Singkatan.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Mimba.....	9
2.1.1 Morfologi Tanaman.....	9
2.1.2 Kandungan bahan aktif mimba.....	12
2.1.3 Manfaat Daun Mimba.....	19
2.2 Kandidiasis vaginalis.....	22
2.2.1 Definisi.....	22
2.2.2 Etiologi.....	23
2.2.3 Epidemiologi.....	24
2.2.4 Patogenesis.....	24
2.2.5 Interaksi imunologi.....	26
2.2.6 Faktor predisposisi.....	29
2.2.7 Gambaran klinis.....	32
2.2.8 Diagnosis.....	33
2.2.9 Kandidiasis vaginalis berulang.....	35
2.2.10 Diagnosis banding.....	35
2.2.11 Penatalaksanaan.....	36
2.2.12 Pencegahan.....	42
2.2.13 Komplikasi.....	42

2.3	<i>C albicans</i>	43
2.4	Makrofag	49
2.5	<i>Rattus norvegicus</i>	53
BAB 3	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	56
3.1	Kerangka Konsep Penelitian	56
3.2	Hipotesis Penelitian	58
BAB 4	MATERI DAN METODE PENELITIAN	59
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	59
4.2	Unit Eksperimen dan Replikasi	61
4.2.1	Unit Eksperimen	61
4.2.2	Replikasi	61
4.2.3	Pengelompokan Unit Eksperimen	62
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel	63
4.3.1	Variabel Penelitian	63
4.3.2	Definisi Operasional	64
4.4	Bahan Penelitian	67
4.5	Instrumen Penelitian	68
4.6	Lokasi dan Waktu Penelitian	69
4.7	Prosedur Pengambilan Data	69
4.7.1	Penentuan jenis, dosis dan waktu perlakuan.....	69
4.7.2	Prosedur penelitian	70
4.8	Kerangka Kerja Penelitian.....	74
4.9	Cara Pengolahan dan Analisis Data.....	75
BAB 5	HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN.....	76
5.1	Data Penelitian	76
5.2	Analisis dan Hasil Penelitian	86
BAB 6	PEMBAHASAN	97
BAB 7	PENUTUP	105
7.1	Simpulan	105
7.2	Saran	105
	DAFTAR PUSTAKA	107
	LAMPIRAN.....	113

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 : Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah blastospora model kandidiasis vaginalis.....	86
Tabel 5.2 : Perubahan jumlah blastospora sebelum dan setelah perlakuan	88
Tabel 5.3 : Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah pseudohifa model kandidiasis vaginalis.....	89
Tabel 5.4 : Perubahan jumlah pseudohifa sebelum dan setelah perlakuan	90
Tabel 5.5 : Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah koloni <i>C albicans</i> model kandidiasis vaginalis.....	91
Tabel 5.6 : Perubahan jumlah koloni <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan.....	93
Tabel 5.7 : Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap peningkatan jumlah sel makrofag model kandidiasis vaginalis.....	94
Tabel 5.8 : Perubahan jumlah sel makrofag sebelum dan setelah perlakuan....	96

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Pohon mimba	10
Gambar 2.2 : Daun mimba	11
Gambar 2.3 : Bunga mimba	11
Gambar 2.4 : Buah mimba	12
Gambar 2.5 : Blastospora dan pseudohifa	34
Gambar 2.6 : Koloni <i>C albicans</i>	34
Gambar 2.7 : Strukur kimia Flukonazol.....	40
Gambar 2.8 : Dinding sel <i>C albicans</i>	47
Gambar 2.9 : <i>Rattus norvegicus</i>	53
Gambar 3.1 : Kerangka Konsep Penelitian	56
Gambar 4.1 : Kerangka Kerja Penelitian	74
Gambar 5.1 : Kelompok kontrol negatif (K-) yang tidak diinokulasi <i>C albicans</i> dan tidak diberi perlakuan	77
Gambar 5.2 : Blastospora dan pseudohifa pada K+ yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan obat anti jamur 0,035 mg/100 g BB	78
Gambar 5.3 : Blastospora dan pseudohifa pada P1 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB	78
Gambar 5.4 : Blastospora dan pseudohifa pada P2 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB	79
Gambar 5.5 : Blastospora dan pseudohifa pada P3 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100 g BB	79
Gambar 5.6 : Kelompok kontrol negatif (K-) yang tidak diinokulasi <i>C albicans</i> dan tidak diberi perlakuan	80

Gambar 5.7	: Koloni <i>C albicans</i> pada K+ yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan obat anti jamur 0,035 mg/100 g BB	81
Gambar 5.8	: Koloni <i>C albicans</i> pada P1 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB	81
Gambar 5.9	: Koloni <i>C albicans</i> pada P2 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB	82
Gambar 5.10	: Koloni <i>C albicans</i> pada P3 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100 g BB	82
Gambar 5.11	: Sel makrofag pada K- yang tidak diinokulasi <i>C albicans</i> dan tidak diberi perlakuan	83
Gambar 5.12	: Sel makrofag pada K+ yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan obat anti jamur 0,035 mg/100 g BB	84
Gambar 5.13	: Sel makrofag pada P1 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB	84
Gambar 5.14	: Sel makrofag pada P2 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB	85
Gambar 5.15	: Sel makrofag pada P3 yang diinokulasi <i>C albicans</i> sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100 g BB	85
Gambar 5.16	: Histogram penurunan jumlah blastospora akibat aktifitas ekstrak daun mimba	87
Gambar 5.17	: Histogram penurunan jumlah pseudohifa akibat aktifitas ekstrak daun mimba	89
Gambar 5.18	: Histogram penurunan jumlah koloni <i>C albicans</i> akibat aktifitas ekstrak daun mimba	92
Gambar 5.19	: Histogram peningkatan jumlah sel makrofag akibat aktifitas ekstrak daun mimba	94

DAFTAR LAMPIRAN

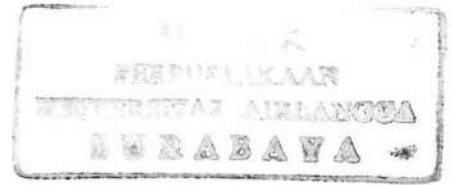
	Halaman
Lampiran 1 : Konversi perhitungan dosis pada hewan untuk beberapa jenis hewan dan manusia	113
Lampiran 2 : Dosis ekstrak daun mimba pada kelompok perlakuan	114
Lampiran 3 : Kelompok kontrol negatif (K-).....	115
Lampiran 4 : Dosis kelompok kontrol positif (K+) dengan obat anti jamur	116
Lampiran 5 : Penghitungan jumlah blastospora dan pseudohifa	117
Lampiran 6 : Penghitungan jumlah koloni <i>C albicans</i>	118
Lampiran 7 : Penghitungan jumlah sel makrofag	119
Lampiran 8 : Data penelitian sebelum perlakuan.....	120
Lampiran 9 : Data penelitian setelah perlakuan.....	121
Lampiran 10 : Analisis hasil penelitian	122
Lampiran 11 : Sertifikat kelaikan etik	144

DAFTAR SINGKATAN

AKDR	: Alat Kontrasepsi Dalam Rahim
APC	: Antigen Presenting Cells
C	: Celcius
C albicans	: Candida albicans
CD4	: Cluster of Differentiation 4
CD8	: Cluster of Differentiation 8
CDC	: Centers for Disease Control
CMC	: Carboxy Methyl Cellulose
CMI	: Cell Mediated Immunity
CO ₂	: Carbondioksida
CTL	: Cytotoxic lymphocyt
DM	: Diabetes Mellitus
H ₂ O	: Hydrogen
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HE	: Haematoxylin Eosin
IDSA	: Infectious Disease Society Of America
IFN γ	: Interferon Gamma
IgG	: Immunoglobulin G
IgM	: Immunoglobulin M
IL-2	: Interleukin 2
KOH	: Kalium Hydroxyda
LCB	: Lactophenol Cotton Blue
LSD	: Least Significantly Difference
N	: Nitrogen
NF- κ B	: Nuclear Transcription Factor-Kappa B
O ₂	: Oxygen
OPC	: Oligomeric Proanthyanidins
PAMPs	: Pathogen-associated Molecular Pattern
PBS	: Phosphat Buffer Saline
PDGF	: Platelet-derived growth factor
PG-E ₂	: Prostaglandin E ₂
pH	: Potensial Hydrogen
PMN	: Polymorphonuclear Neutrophil
TH1	: T-Helper 1
TNF α	: Tumor Necrosis Factor Alfa
TLRs	: Tool Like Receptors
TLR2	: Tool Like Receptor 2
TPC	: Total Plate Count
WHO	: World Health Organization

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Salah satu penyebab keputihan pada wanita adalah kandidiasis vaginalis, yaitu infeksi jamur pada dinding vagina yang disebabkan oleh genus *Candida Sp.* terutama *C albicans* (Brown *et al.*, 2002). *C albicans* memperbanyak diri dengan membentuk blastospora (*budding cell*). Blastospora akan saling bersambung dan bertambah panjang membentuk pseudohifa yang lebih virulen dan invasif daripada spora. Hal ini dikarenakan pseudohifa berukuran lebih besar sehingga lebih sulit difagositosis oleh makrofag. *C albicans* bersifat oportunistis yaitu dapat hidup sebagai saprofit tanpa menimbulkan keluhan dan akan berubah menjadi patogen menimbulkan penyakit kandidiasis vaginalis bila terdapat faktor-faktor predisposisi yang mengakibatkan perubahan lingkungan vagina serta berperan dalam meningkatkan pertumbuhan *C albicans* serta memudahkan invasi *Candida* ke dalam jaringan (Martin, 1992; Adimora *et al.*, 1994; Mulyati *et al.*, 1994; Curry *et al.*, 1994; Soedarmadi, 1997).

Infeksi *C albicans* invasif merupakan ancaman kesehatan yang cukup serius terutama pada pasien yang memiliki kondisi immunosupresi, bila tidak diatasi bisa terjadi kandidiasis sistemik (Netea *et al.*, 2006). Komplikasi yang sering terjadi adalah infeksi berulang, pada ibu hamil dapat terjadi kutis kongenital, abortus spontan, kandidiasis intra uteri, korioamnionitis, sepsis, abses otak dan peritonitis.

Kandidiasis vaginalis paling sering menyebabkan vaginitis yang dapat menimbulkan masalah infertilitas, karena infeksi ini akan meningkatkan keasaman vagina yang dapat membunuh sperma dan pengkerutan vagina menghambat transportasi sperma ke vagina (Van Dick *et al.*, 1997; Syafrisar, 2007). Mengingat komplikasi yang dapat ditimbulkan oleh kandidiasis vaginalis maka secepatnya harus segera diobati. Obat anti jamur yang sering digunakan masyarakat adalah turunan imidazol dan triazol dengan mekanisme kerjanya menghambat sintesis ergosterol (komponen esensial membran sel jamur). Bila komponen ini hilang akan meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga sel rusak dan mengakibatkan kematian sel jamur (Anonimus, 2008; Sylvia, 2008).

Kandidiasis vaginalis umumnya terjadi pada penderita dengan status sosial ekonomi rendah. Wanita reproduktif sekitar 70-75% pernah mendapatkan sekali infeksi selama masa hidupnya dan sekitar 40-50% cenderung mengalami kekambuhan (Murtiastutik, 2008). Harga obat anti jamur relatif mahal, hal ini menimbulkan konsekuensi pengeluaran biaya pengobatan bagi penderita sehingga masyarakat berpaling ke obat tradisional. Berbagai macam tanaman obat anti jamur karena *C albicans* telah dilakukan penelitian diantaranya adalah *Allium sativum* L. (bawang putih), *Andrographis paniculata* Ness (sambiloto), *Apium raveolens* (seledri), *Cassia alata* L. (ketepeng), *Curcuma omestica* Vahl. (kunyit), *Curcuma xanthorrhiza* Roxb (temulawak), *Menta arvensis* BL. (poko), *Ocinum bacilicum* L. (kemangi), *Piper betle* L. (sirih), *Tithonia diversifolia* A. Gray (kembang bulan) dan diduga kandungan glikosida senyawa fenolik yang bersifat anti jamur (Dian *et al.*,

2001) termasuk juga penelitian anti jamur tanaman mimba yang dilakukan Dewanti (2007).

Mimba merupakan tanaman yang banyak digunakan sebagai tanaman penghijauan di Indonesia, selain itu mimba dapat digunakan sebagai pembasmi hama, sebagai obat, bahan pupuk dan juga sebagai bahan kosmetik sehingga disebut sebagai tanaman multifungsi (Kardinan dan Dhalimi, 2003). Mimba terutama biji dan daunnya mengandung beberapa komponen dari produksi metabolit sekunder (molekul atau produk metabolik yang dihasilkan oleh proses metabolisme sekunder mikroorganisme yang berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup) yang diduga sangat bermanfaat, beberapa di antaranya adalah *azadirachtin*, *salanin*, *meliantriol*, *nimbin* dan *nimbidin*, *galic acid*, *epicatechin*, *catechin*, *trisulphide*, *tetrasulphide* dan *gedunin* (Ruskin, 1993; Mirin, 1997; Kardiman, 1999; Biswas *et al.*, 2002; Sylvia, 2008). Secara empiris, masyarakat telah memanfaatkan tanaman mimba untuk mengatasi berbagai macam penyakit seperti cacangan, kudis, malaria, infeksi jamur, tumor dan alergi (Ganguli, 2002 ; Goel *et al.*, 2002).

Sebagai anti jamur daun mimba mengandung *nimbin*, *nimbidin*, *cyclic trisulphide*, *cyclic tetrasulphide*. Daun mimba telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan jamur *Trichophyton mentagrophytes* (Casey, 1994; Talwar *et al.*, 1997; Biswas *et al.*, 2002). Hasil penelitian Dewanti (2007) pada tikus Wistar yang diinokulasi *C albicans* pada oral dikatakan bahwa penurunan jumlah koloni *C albicans* diduga karena kandungan imunomodulator (*Galic acid*, *epicatechin*,

catechin) dan kandungan *nimbin*, *nimbidin*, *cyclic trisulphide*, *cyclic tetrasulphide* yang dapat berfungsi sebagai antijamur. Kandungan imunomodulator dapat meningkatkan respons imun terhadap *C albicans*, sedangkan kandungan antijamur dapat membunuh jamur secara langsung. Pembunuhan secara langsung dapat terjadi karena kandungan anti jamur *nimbin* dan *nimbidin* dapat merusak membran sel jamur dengan merubah permeabilitas membran sel, yang kemudian terbentuk pori-pori sehingga membran sel menjadi bocor mengakibatkan kematian sel jamur. Selain itu kandungan sulfur pada daun mimba diduga dapat berkompetisi dengan oksigen pada sel jamur, sehingga terjadi toksisitas pada jamur dan menyebabkan kematian sel jamur. Penelitian lain Dewanti (2003) menjelaskan bahwa perasan daun mimba dapat menghambat pertumbuhan *C albicans* secara *in vitro*.

Daun mimba dapat memodulasi *Polymorphonuclear Neutrophil* (PMN), makrofag dan limfosit T sehingga mempengaruhi fagositosis. Makrofag sebagai fagosit berfungsi menghancurkan imunogen dan sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC) mengenali mikroba melalui reseptor (Diamond *et al.*, 1991; Newman *et al.*, 2001; Ulmann *et al.*, 2004). Reseptor yang mengaktifkan makrofag untuk menstimuli *innate immunity* adalah *Toll Like Receptors* (TLRs) yaitu *Toll Like Receptor-2* (TLR2) yang mengaktifkan *Nuclear Transcription Factor-Kappa B* (NF- κ B) kemudian menstimulasi aktivasi fagositosis dan produksi sitokin (Kadowaki *et al.*, 2001; Sato Morihito *et al.*, 2003; Netea *et al.*, 2006). Respon imunologis pada infeksi *Candida* adalah sistem kekebalan selular, limfosit T bertindak selaku regulator utama

dalam pertahanan pejamu memproduksi sitokin IL-2 dan IFN γ . Sitokin akan merangsang sel efektor PMN, makrofag dan sel *Natural Killer* (NK cell) untuk meningkatkan aktifitas kandidisidal (Andrean *et al*, 2007). Aktivasi sel makrofag juga meningkatkan ekspresi molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II dan stimulator akan memperkuat penyajian antigen sehingga meningkatkan aktivasi limfosit T dan melipatgandakan reaksi imun selular disertai penambahan jumlah sel makrofag untuk membantu membersihkan infeksi secara cepat (Subowo, 2009).

Meskipun manfaat daun mimba sudah banyak dirasakan oleh sebagian masyarakat namun bukti ilmiah aktifitas daun mimba terhadap kandidiasis vaginalis karena *C albicans* belum jelas. Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktifitas ekstrak daun mimba terhadap jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag pada kandidiasis vaginalis.

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada *Rattus norvegicus* yang diinokulasi *C albicans* sebagai model karena terbatasnya etika penelitian jika dilakukan pada manusia. Dipakai *Rattus norvegicus* sebagai hewan coba karena penelitian ini masih dalam uji praklinis dalam rangka mendapatkan dosis terapi yang aman untuk dikonversikan ke manusia, selain itu *Rattus norvegicus* memiliki struktur dan fungsi organ tubuh mirip manusia juga respon terhadap pengaruh bahan yang diberikan. Metode yang digunakan adalah studi eksperimental laboratoris dengan cara vagina *Rattus norvegicus* diinokulasi dengan *C albicans* sebanyak 0,1 cc yang mengandung 1×10^8 *C albicans* dalam PBS yang disemprotkan menggunakan *disposable syringe* dan dilakukan 2 x sehari selama 6 hari sehingga tikus menjadi

kandidiasis vaginalis, kemudian diberi konsumsi ekstrak daun mimba dengan dosis 19 mg/100 g BB, 57 mg/100 g BB dan 95 mg/100 g BB selama 21 hari. Ekstrak daun mimba yang dipakai adalah ekstrak etanol.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak daun mimba dapat menurunkan jumlah blastospora pada kandidiasis vaginalis ?
2. Apakah ekstrak daun mimba dapat menurunkan jumlah pseudohifa pada kandidiasis vaginalis ?
3. Apakah ekstrak daun mimba dapat menurunkan jumlah koloni *C albicans* pada kandidiasis vaginalis ?
4. Apakah ekstrak daun mimba dapat meningkatkan jumlah sel makrofag pada kandidiasis vaginalis ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mempelajari aktifitas ekstrak daun mimba sebagai pengobatan pada kandidiasis vaginalis.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan penurunan jumlah blastospora setelah pemberian ekstrak daun mimba pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis.
2. Membuktikan penurunan jumlah pseudohifa setelah pemberian ekstrak daun mimba pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis.
3. Membuktikan penurunan jumlah koloni *C albicans* setelah pemberian ekstrak daun mimba pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis.
4. Membuktikan peningkatan jumlah sel makrofag setelah pemberian ekstrak daun mimba pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang aktifitas ekstrak daun mimba terhadap kandidiasis vaginalias. Dengan mengetahui dosis yang paling signifikan dari aktifitas ekstrak daun mimba terhadap kandidiasis vaginalis, akan berguna sebagai acuan penelitian lebih lanjut tentang dosis yang aman bila dikonversikan pada manusia. Selain itu penelitian ini berguna sebagai acuan penelitian lebih lanjut tentang kajian intoksikasi/efek samping dari ekstrak daun mimba.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pemikiran bagi praktisi klinis untuk menggunakan daun mimba sebagai alternatif pengobatan kandidiasis vaginalis karena selain adanya komponen anti jamur pada daun mimba juga terdapat komponen imunomodulator. Peningkatan jumlah sel makrofag karena pemberian ekstrak daun mimba pada kandidiasis vaginalis, hal ini menunjukkan bahwa daun mimba berfungsi sebagai imunomodulator. Sel makrofag merupakan bagian dari imunitas seluler yang merupakan komponen utama dari sistem imun. Keefektifan suatu anti mikroba tergantung dari interaksi antara kuman penyebab infeksi, anti mikroba dan kemampuan fagosit dari imunitas seluler yaitu makrofag. Disamping itu penelitian ini berguna sebagai acuan penelitian lebih lanjut tentang kajian mekanisme imunomodulator.

1.4.3 Manfaat Metodologi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi kepada masyarakat dalam mengatasi kandidiasis vaginalis, yaitu dengan membudidayakan tanaman mimba sebagai TOGA (Tanaman Obat Keluarga) dan dengan metode yang sederhana dapat dilakukan oleh masyarakat itu sendiri yaitu hanya menyeduh daunnya dapat memberikan efek terapi terhadap kandidiasis vaginalis. Selain itu penelitian ini berguna sebagai acuan penelitian lebih lanjut tentang jumlah daun yang dibutuhkan guna mencapai efek terapi tersebut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mimba

2.1.1 Morfologi Tanaman

Tanaman mimba (*Azadirachta indica* Juss) merupakan pohon yang tinggi batangnya dapat mencapai 20 m dan dapat tumbuh di daerah tropik dan subtropik digunakan sebagai pohon penghijauan dan reboisasi termasuk di Indonesia. Pohon mimba bersifat mampu menyerap *Carbondyoksida* (CO₂) dari udara dan mengeluarkan *Oxygen* (O₂) relatif lebih banyak dibanding pohon-pohon lainnya sehingga meminimalkan polusi udara. Selain itu pohon mimba mempunyai perakaran kuat dan dalam yang mampu memperbaiki kesuburan tanah. Klasifikasi tanaman mimba adalah :

Divisio	:	Spermatophyta
Class	:	Dikotiledonae
Sub Class	:	Angiospermae
Ordo	:	Rutales
Familia	:	Meliaceae
Genus	:	<i>Azadirachta</i>
Species	:	<i>Azadirachta indica</i> Juss

Mimba merupakan tanaman bernilai sangat tinggi karena sangat bermanfaat bagi kepentingan industri dan pertanian, selain itu mimba dipercaya masyarakat sebagai obat tradisional yang mampu menyembuhkan segala jenis penyakit pada manusia (Kardinan dan Taryono, 2003). Mimba khususnya daunnya berkhasiat sebagai anti bakteri, anti jamur, anti virus, anti kanker, menanggulangi penyakit kulit, menjaga kesehatan mulut dan gigi, obat malaria, mengurangi rasa sakit, obat demam, obat cacing, bahkan mampu menghambat pertumbuhan HIV (Ruskin, 2003; Kardinan dan Taryono, 2003)

Ciri-ciri tanaman mimba adalah :

a. Pohon Mimba

Batang tegak, kulit kayu relatif tebal, akar menancap ke dalam tanah, mempunyai diameter batang batang yang cukup besar (2 – 5 m), kayunya termasuk kayu kelas satu, sehingga bermanfaat digunakan sebagai bahan bangunan. Diameter rimbunannya bisa mencapai 10 m. Pohon mimba akan segera tumbuh jika dipotong hal ini karena didukung oleh sistem perakaran yang cukup besar untuk menyuplai makanan.



Gambar 2.1 Pohon mimba (*Azadirachta indica* Juss)

b. Daun

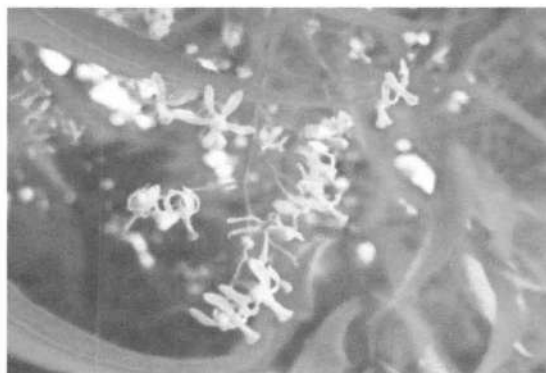
Daun mimba tersusun spiralis, mengumpul di ujung ranting, merupakan daun majemuk, panjang 22 – 32 cm dan jumlah anak daun 7 – 17 helai. Pohon dengan tinggi 7,5 meter memberikan sekitar 360 kg daun. Daun-daun gugur pada bulan Pebruari dan Maret.



Gambar 2.2 Daun mimba (*Azadirachta indica* Juss)

c. Bunga

Berukuran kecil, berwarna putih, biseksual dan tersusun di ranting secara aksilar. Bunga ini memiliki aroma seperti madu sehingga menarik lebah dan muncul pada bulan Januari sampai Mei bersamaan dengan munculnya daun baru.



Gambar 2.3 Bunga mimba
<http://bptsitubondo.files.wordpress.com>

c. Buah

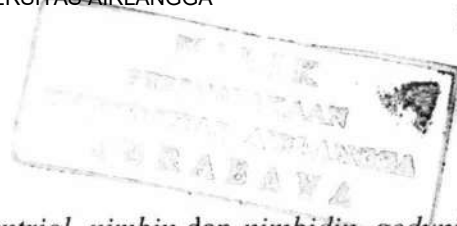
Buahnya halus, bulat lonjong seperti mlinjo dengan ukuran panjang 1,25 sampai 1,8 cm dan lebarnya 1 cm berwarna hijau ketika muda setelah matang berwarna kuning atau hijau kekuningan mengandung daging buah yang rasanya manis. Pohon mimba berbuah pada umur 3 – 5 tahun dan menjadi produktif penuh pada umur 10 tahun. Pada umur produktif mimba bisa menghasilkan 50 kg per pohon. Pohon ini bisa hidup sampai 2 abad. Di Indonesia umumnya buah mimba matang pada bulan Maret sampai Agustus. Buah tersebut terbungkus di dalam bungkus yang ketat dengan komposisi kulit 23,8%, pulpa 47,5%, shell 18,6%, karnel 10,1%.



Gambar 2.4 Buah mimba
<http://bptsitubondo.files.wordpress.com>

2.1.2 Kandungan bahan aktif mimba

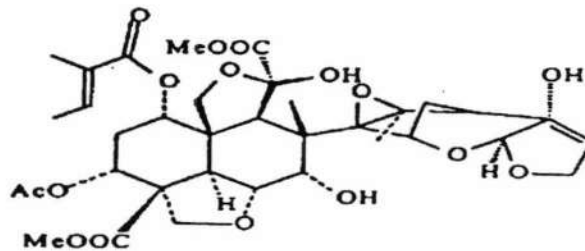
Mimba terutama biji dan daunnya mengandung beberapa komponen dari produksi metabolit sekunder yang diduga sangat bermanfaat baik dalam bidang pertanian (pestisida dan pupuk) maupun farmasi dan obat-obatan. Beberapa



diantaranya adalah *azadirachtin*, *salanin*, *meliantriol*, *nimbin* dan *nimbidin*, *gedunin*, *mahmodin*, *galic acid*, *epicatechin*, *catechin*, *margolone*, *margolonone*, *isomargolonone*, *cyclitrisulphide*, *cyclictetrasulphide* dan *polisakarida* (Ruskin, 1993; Biswas *et al.*, 2002; Kardinan dan Taryono, 2003).

a. *Azadirachtin*

Kandungan bahan aktif ini banyak dijumpai pada biji mimba. Dalam 1 gram biji mimba kira-kira terdapat 2 – 4 mg *azadirachtin*, namun ada juga yang sampai 9 mg. *Azadirachtin* berperan sebagai *ecdyson blocker* atau zat yang dapat menghambat kerja hormon *ecdyson*, yaitu suatu hormon yang berfungsi dalam proses *metamorphose* serangga. Serangga akan terganggu pada proses pergantian kulit ataupun perubahan dari telur menjadi larva, atau dari larva menjadi kepompong atau dari kepompong menjadi dewasa, kegagalan proses ini dapat mengakibatkan kematian (Chiu, 1998).



Azadirachtin

(Biswas *et.al*, 2002)

b. *Salanin*

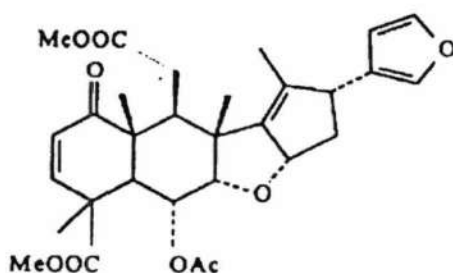
Bahan aktif ini berperan sebagai penurun nafsu makan (anti-feedant) yang mengakibatkan daya rusak serangga sangat menurun, walaupun serangganya sendiri belum mati. Oleh karena itu penggunaan pestisida dari mimba seringkali hama tidak mati seketika setelah disemprot memerlukan 4 – 5 hari untuk mati (Ruskin, 1993).

c. *Meliantriol*

Meliantriol berperan sebagai penghalau (repellent) yang mengakibatkan serangga hama enggan mendekati zat tersebut (Sudarmadji, 1999).

d. *Nimbin dan nimbidin*

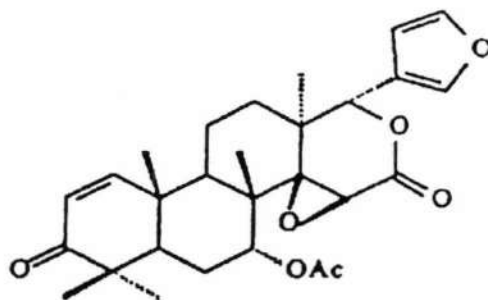
Nimbin dan *nimbidin* berperan sebagai anti mikro organisme seperti anti virus, bakterisida, fungisida sangat bermanfaat untuk mengendalikan penyakit tanaman (Ruskin, 1993). Bahan ini sering digunakan dan dipercaya masyarakat sebagai obat tradisional menyembuhkan segala jenis penyakit pada manusia (Kardinan dan Taryono, 2003).



Nimbin
(Biswas *et.al*, 2002)

e. *Gedunin*

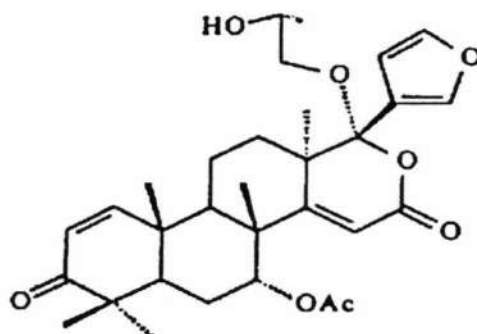
Gedunin dapat diisolasi dari tanaman mimba yang telah dilaporkan berfungsi sebagai anti jamur dan anti malaria.



Gedunin
(Biswas *et.al*, 2002)

f. *Mahmodin*

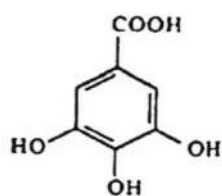
Mahmodin dapat diisolasi dari tanaman mimba yang telah dibuktikan sebagai anti bakteri dari beberapa strain bakteri yang pathogen pada manusia.



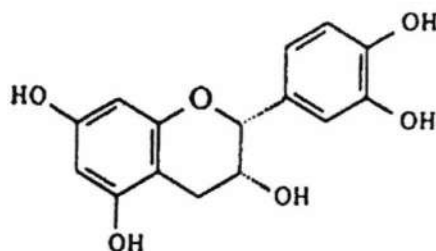
Mahmodin
(Biswas *et al*, 2002)

g. Galic acid, epicatechin, catechin

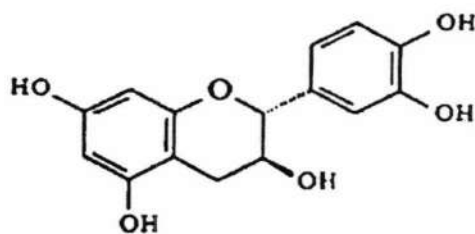
Galic acid, epicatechin, catechin merupakan golongan *Oligomeric Proanthcyanidins* (OPC) yang dapat diisolasi dari daun mimba dan berfungsi sebagai anti inflamasi dan immunomodulasi. Khususnya *cathechin* dapat memberikan respons terhadap PMN neutrofil, memodulasi *oxidative burst* dari PMN selama inflamasi. Komponen ini dapat diabsorbsi dengan cepat dalam mukosa membran usus dan dengan cepat diedarkan dalam darah, mempunyai *half life* dalam plasma 5 jam dan dengan cepat pula diabsorbsi dalam jaringan. Peningkatan darah kapiler dapat terjadi sekitar 6 jam, kemudian mengalami penurunan. Komponen ini berperan selama proses inflamasi, juga pada kerusakan jaringan akibat inflamasi tersebut.



Galic acid



Epicatechin

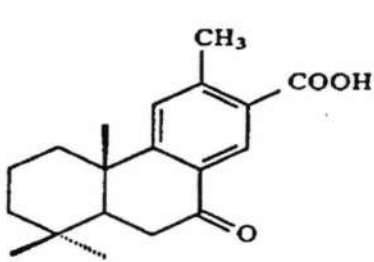


Catechin

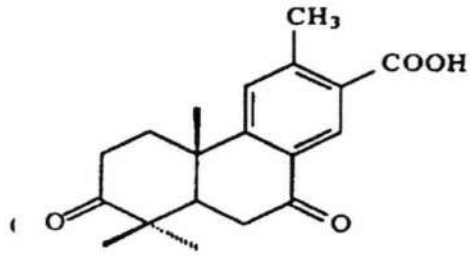
(Biswas *et.al*, 2002)

h. *Margolone, margolonone, isomargolonone*

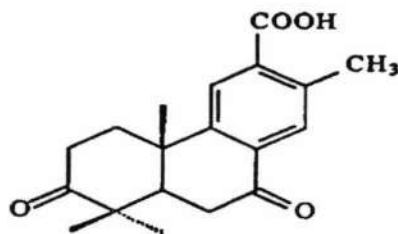
Banyak dijumpai pada kulit batang dan dapat diisolasi sebagai anti bakteri terhadap spesies *klebsiella*, *staphylococcus* dan *serratia*.



Margolone



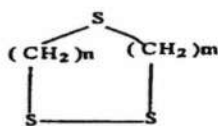
Margolonone



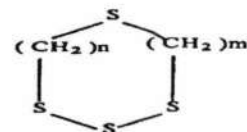
Isomargolonone
(Biswas *et.al*, 2002)

i. *Cyclic trisulphide dan cyclic tetrasulphide*

Diisolasi dari daun mimba yang segar, matang dan dapat berperan sebagai anti jamur.



Cyclic trisulphide

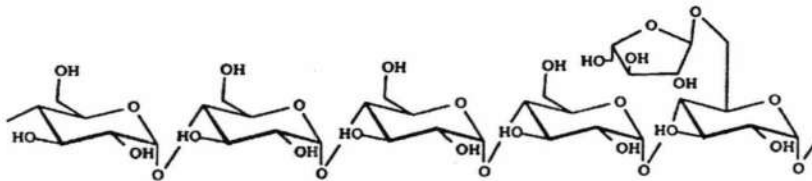


Cyclic tetrasulphide

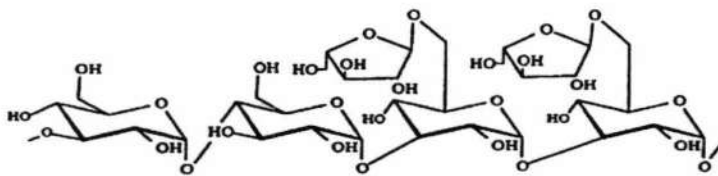
(Biswas *et.al*, 2002)

j. *Polisakarida*

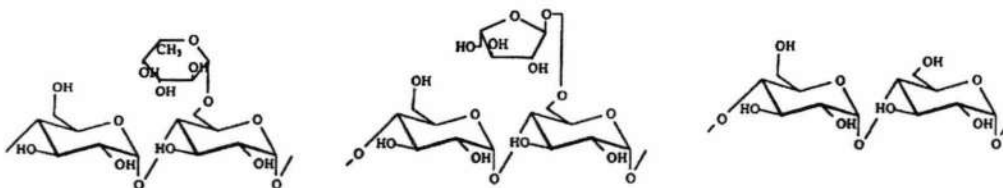
Beberapa polisakarida seperti polisakarida Gla, GIIb dapat diekstrak dari kulit batang mimba berfungsi sebagai anti inflamasi, anti tumor yang kuat. Hal ini dibuktikan pada mencit yang diberi konsumsi mimba 50 mg/kg selama 4 hari dan pada 24 jam setelahnya diinokulasi subkutan dengan sel sarcoma-180. Dua polisakarida GIIa dan GIIIa juga menunjukkan efek anti inflamasi. Dua polimer yang diisolasi dari kulit batang berfungsi sebagai anti komplemen. Disamping itu isolasi dari biji mimba dapat berfungsi sebagai anti ulser lambung.



Polisakarida Gla



Polisakarida GIIa



Polisakarida GIIIa
(Biswas *et.al*, 2002)

2.1.3 Manfaat Daun Mimba

Sejak jaman dahulu mimba sudah digunakan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit khususnya di India, disana produk-produk dari mimba telah dikembangkan secara komersial. Di India tanaman ini disebut dengan “*the village pharmacy*”. Semua produk dari mimba bersifat anti septik sehingga mampu mengendalikan berbagai gangguan dari organisme seperti jamur, bakteri, ataupun virus, termasuk dalam shampoo mimba dapat membasmi kutu dan ketombe. Produk-produk yang bersifat organik sangat diminati oleh masyarakat karena didorong oleh gerakan mendunia saat ini yaitu “*back to nature*” yang menggunakan bahan-bahan dari alam sekitarnya, khususnya tumbuhan (herbal) (Kardinan dan Dhalimi, 2003).

Mimba adalah salah satu tanaman obat tradisional yang hampir semua bagian tanamannya dapat dimanfaatkan yaitu sebagai anti jamur, anti malaria, anti bakteri, anti piuretik dan imunomodulator. Sampai saat ini bagian tanaman yang paling sering digunakan adalah daun dan bijinya (Mirin, 1997; Kardiman, 1999; Biswas *et al.*, 2002). Menurut Ruskin (1993) terutama daunnya berkhasiat sebagai anti bakteri, anti virus, menanggulangi penyakit kulit termasuk jamur, menjaga kesehatan gigi dan mulut, obat malaria, mengurangi rasa sakit, obat demam, obat cacing, bahkan mampu menghambat pertumbuhan HIV. Secara empiris masyarakat telah memanfaatkan tanaman mimba untuk mengatasi berbagai macam penyakit seperti cacangan, kudis, malaria, infeksi jamur, mengatasi tumor atau alergi dengan cara minum rebusan atau perasan daun mimba (Ganguli, 2002 ; Goel *et al.*, 2002). Daun mimba

dapat digunakan secara langsung dalam keadaan segar ataupun dikeringkan namun ada juga yang dibuat serbuk. Bila digunakan sebagai obat, dalam keadaan segar 7 lembar daun mimba dicuci bersih setara dengan $\frac{1}{4}$ sendok teh serbuk daun mimba yang perlu digodok dalam 2 (dua) gelas air menjadi 1 (satu) gelas air atau langsung diseduh air panas dalam 1 (satu) gelas dan diminum selagi hangat (Kardinan dan Dhalimi, 2003). Daun mimba mengandung senyawa diantaranya adalah *β -sitosterol*, *hyperoside*, *nimbolide*, *quercetin*, *quercitrin*, *azadirachtin*, dan *nimbine*. Beberapa diantaranya memiliki aktivitas anti kanker. Selain itu daun mimba mengandung *nimbin*, *nimbidine*, *6-desacetylnimbine*, *nimbolide*, dan *quercetin*. Selain itu juga mengandung *margolon*, *margolonone*, *cyclic trisulphide* dan *cyclic tetrasulphide* (Biswas *et al.*, 2002).

Sebagai anti jamur daun mimba mengandung *nimbin*, *nimbidine*, *cyclic sulphide*, *cyclic tetrasulphide*. Hal ini telah terbukti bahwa perasan daun mimba dapat menghambat pertumbuhan *C albicans* secara *in vitro* (Dewanti, 2003). Selain itu daun mimba juga telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan jamur *Trichohyton mentagrophytest* (Casey, 1994; Talwar *et al.*, 1997; Biswas *et al.*, 2002). Menurut Dewanti (2007) hasil penelitian pada tikus wistar yang diinokulasi *C albicans* pada oral dikatakan bahwa penurunan jumlah koloni *C albicans* diduga karena kandungan imunomodulator (*galic acid*, *epicatechin*, *catechin*) juga kandungan *nimbin*, *nimbidin*, *cyclic trisulphide* dan *cyclic tetrasulphide* yang dapat berfungsi sebagai anti jamur. Kandungan imunomodulator dapat meningkatkan respons imun terhadap *C albicans*, sedangkan kandungan anti jamur dapat membunuh

jamur secara langsung dengan cara meningkatkan permeabilitas membran jamur dan adanya kandungan sulphur yang menyebabkan kematian sel jamur.

Beberapa penelitian membuktikan mimba dapat memodulasi respons imun seluler dan humoral pada mencit yang diimunisasi dengan ovalbumin. Modulasi respons imun humoral tersebut meliputi peningkatan *Immunoglobulin G* (IgG), *Immunoglobulin G* (IgM), titer antibodi anti-ovalbumin (Ray *et al.*, 1996; Talwar *et al.* (1997). Penelitian lain tentang potensi imunomodulatori ekstrak daun mimba terhadap *Cluster of Differentiation 4* (CD4), *Cluster of Differentiation 8* (CD8), sel T-Helper 1 (sel TH1), *Tumor Necrosis Factor α* (TNF α), *Interferon γ* (IFN γ) dan makrofag pada tikus dan kera (Talwar *et al.*, 1997). Menurut Dewanti (2003) pada penelitiannya membuktikan bahwa perasan daun mimba dapat menghambat pertumbuhan *C albicans* secara *in vitro*. Selain itu penelitian lain juga membuktikan bahwa perasan daun mimba dapat menurunkan jumlah sel radang pada tikus yang diinokulasi *C albicans* (Eliana dan Ratna, 2005).

Mimba memodulasi PMN, makrofag dan limfosit sehingga mempengaruhi aktivitas fagositosis. Sel APC (*Antigen Presenting Cell*) yang termodulasi, akan mempengaruhi produksi IL-12 dan ekspresi MHC (*Major Histocompatibility Complex*) kelas II, kelas I. IL-12 akan mempengaruhi diferensiasi Th0 menjadi Th1 dan Th2, sehingga akan berpengaruh pada ekspresi CD4, CD8 serta produksi, TNF α , IFN γ , aktivitas makrofag dan imunoglobulin. Dari hal tersebut dapat dimengerti

bahwa mimba memodulasi respons imunitas alami, seluler dan humoral (Upadhyay *et al.*, 1992; Sairam *et al.*, 1997; Sastrodihardjo, 1998; Sadekar *et al.*, 1998).

Makrofag sebagai fagosit berfungsi menghancurkan imunogen dan sebagai *Antigen Presenting Cells* (APC) mengenali mikroba melalui reseptor. (Diamond *et al.*, 1991; Newman *et al.*, 2001 dan Ulmann *et al.*, 2004). Diduga reseptor yang mengaktifkan makrofag untuk menstimulasi *innate immunity* adalah *Toll-Like Reseptors* (TLRs) yaitu TLR2 yang mengaktifkan NF- κ B kemudian menstimulasi aktivasi fagositosis dan produksi sitokin. Dari 10 TLRs yang ditentukan, TLR2 diduga merupakan kunci mediator *innate immunity* terhadap *C. albicans*. Pada kandidiasis terjadi supresi TLR2 yang menurunkan fungsi fagositosis dan mempengaruhi TNF α . (Kadowaki *et al.*, 2001; Sato Morihito *et al.*, 2003; Netea *et al.*, 2006).

2.2 Kandidiasis vaginalis

2.2.1 Definisi

Kandidiasis vaginalis adalah infeksi vagina yang disebabkan oleh *Candida sp* terutama genus *C albicans* dan dari lain genus *Candida* (Sobel, 1999; Mulyati *et al.*, 1994; Subchan, 2001). Merupakan infeksi jamur oportunistik yang dapat terjadi secara primer atau sekunder dan dapat bersifat akut, sub akut maupun kronis episodik. Infeksi kronis bisa berlangsung lebih dari 3 tahun (Murtiastutik, 2008).

2.2.2 Etiologi

Penyebab tersering kandidiasis vaginalis adalah *C albicans* yaitu sekitar 85 – 90%. Sisanya disebabkan oleh spesies non *albicans* yang tersering adalah *Candida glabrata* (*Torulopsis glabarata*) dan *Candida tropicalis* (Adimora *et al.*, 1994; Brown *et al.*, 2002; Murtiastutik, 2008).

Candida sp adalah jamur sel tunggal, berbentuk bulat sampai oval dengan ukuran $2 - 5\mu \times 3 - 6\mu$ hingga $2 - 5,5\mu \times 5 - 28,5\mu$. *C.albicans* yang paling pathogen. *Candida* memperbanyak diri dengan membentuk blastospora (*budding cell*). Blastospora akan saling bersambung dan bertambah panjang sehingga membentuk pseudohifa. Bentuk pseudohifa lebih virulen dan invasif daripada spora. Hal itu dikarenakan pseudohifa berukuran lebih besar sehingga lebih sulit difagositosis oleh makrofag. Selain itu, pseudohifa mempunyai titik-titik blastokonidia multipel pada satu filamennya sehingga jumlah elemen infeksius yang ada lebih besar. Faktor virulensi lain pada *Candida* adalah dinding sel. Dinding sel *Candida* mengandung turunan mannoprotein yang bersifat immunosupresif sehingga mempertinggi pertahanan jamur terhadap imunitas tubuh, dan proteinase aspartil yang menyebabkan *Candida* dapat melakukan penetrasi ke lapisan mukosa.

Dalam menghadapi invasi dari *Candida*, tubuh mengerahkan sel fagosit untuk mengeliminasinya. Interferon (IFN)-gamma akan memblok proses transformasi dari bentuk spora menjadi hifa. Maka bisa disimpulkan, pada seorang wanita dengan defek imunitas humoral, *Candida* lebih mudah membentuk diri menjadi hifa yang lebih virulen dan mudah menimbulkan vaginitis.

Jamur *Candida* dapat tumbuh dengan variasi pH yang luas, tetapi lebih baik pada pH antara 4,5 – 6,5. Pada tubuh manusia jamur *Candida* merupakan jamur yang bersifat oportunistik, yaitu dapat hidup sebagai saprofit atau tanpa menimbulkan suatu kelainan apapun tetapi kemudian dapat berubah menjadi patogen dan menimbulkan penyakit kandidiasis bila terdapat faktor-faktor predisposisi yang menimbulkan perubahan pada lingkungan vagina (Rippon, 1988; Martin, 1988; Ramali *et al.*, 1988 ; Adimora *et al.*, 1994; Mulyati *et al.*, 1994; Curry *et al.*, 1994; Soedarmadi, 1997).

2.2.3 Epidemiologi

Kandidiasis vaginalis umumnya lebih banyak pada penderita dengan status sosial ekonomi rendah dan masa kehamilan. Kejadian kandidiasis vaginalis dengan persentase 70 – 75% wanita mendapatkan setidaknya sekali infeksi selama hidupnya, dan sekitar 40 – 50% cenderung berulang mengalami kekambuhan atau serangan infeksi kedua (Murtiastutik, 2008).

2.2.4 Patogenesis

Manifestasi kandidiasis vaginalis merupakan hasil interaksi antara patogenitas *Candida* dengan mekanisme pertahanan tuan rumah yang berkaitan dengan faktor predisposisi. Patogenesis penyakit dan bagaimana mekanisme pertahanan tuan rumah terhadap *Candida* belum sepenuhnya dimengerti (Ramali *et al.*, 2000).

Candida pada tubuh keadaan normal ditemukan dalam jumlah sedikit di vagina, hidup sebagai saprofit tanpa menimbulkan keluhan atau gejala (asimtomatis). Bersama dengan *Dordelin Lactobacillus (Lactobacillus)* hidup sebagai komensal menjaga keseimbangan ekosistem di dalam vagina. *Lactobacillus* mengubah glikogen menjadi asam laktat yang berguna untuk mempertahankan pH vagina dalam suasana asam (pH 4 – 5) (Curry *et al.*, 1994; Mulyati *et al.*, 1994). Infeksi Candida terjadi karena flora vagina diganggu organisme patogen atau lingkungan vagina berubah sehingga memungkinkan organisme patogen berkembang biak. Infeksi Candida dapat terjadi secara endogen maupun eksogen atau kontak langsung. Infeksi endogen terjadi karena sebelumnya memang Candida sudah hidup sebagai saprofit dalam bentuk blastospora, pada keadaan tertentu dapat terjadi perubahan sifat jamur menjadi patogen sehingga jamur Candida disebut sebagai jamur oportunistik. Adanya faktor predisposisi menyebabkan pertumbuhan Candida di vagina menjadi berlebihan sehingga terjadi koloni simptomatik mengakibatkan timbulnya gejala penyakit kandidiasis vaginalis (Sobel, 1999). Proses infeksi ini dimulai dengan disekresinya enzim fosfolipase oleh blastospora untuk proses perlekatan sel *Candida* pada epitel vagina. Untuk mengkolonisasi mukosa vagina, Candida harus menempel dahulu pada epitel vagina. Strain *albicans* merupakan strain yang mampu menempel paling kuat pada sel epitel vagina. Germinasi Candida membantu terjadinya kolonisasi dan memudahkan proses invasi (Elias, 2003). Bentuk blastospora merupakan bentuk yang berhubungan dengan kolonisasi yang asimptomatik dan tidak ditemukan pseudohyfa. Blastospora juga mensekresi

mikotoksin yaitu gliotoksin yang mampu menghambat fagositosis dan menekan sistem imun lokal. Sel *Candida* memproduksi enzim hidrolitik menyebabkan perubahan perlekatan dengan merusak jaringan membentuk *Germtube* dan terjadilah kandidiasis vaginalis. Sel *Candida* dalam bentuk *Germtube* mensekresi enzim proteolitik untuk proses penetrasi dan kolonisasi membantu tahap awal invasi ke dalam jaringan dan berperan dalam pembentukan hifa (Elias, 2003; Andrian *et al.*, 2007). Hifa *Candida* kemudian tumbuh dan berkolonisasi pada permukaan vagina (Murtiastutik, 2008). Hasil penelitian secara *in vivo* jamur yang tidak mengalami germinasi atau membentuk tunas, tidak mampu menyebabkan kandidiasis vaginalis (Sobel, 1999).

C. albicans dapat memproduksi enzim protease yang bekerja optimal pada pH normal vagina. Hal ini dapat mendukung pertumbuhan jamur yang dapat merusak epitel vagina sehingga menyebabkan vaginitis. Sebagian kecil penderita kandidiasis vaginalis mengalami episode kronis atau rekuren yang disebabkan infeksi berulang pada vagina, fase interseluler yang menetap dari organisme *Candida* serta faktor imunitas penderita (Sobel, 1999; Murtiastutik, 2008).

2.2.5 Interaksi imunologi

Koloni *Candida* akan meningkatkan beban antigenik yang selanjutnya menimbulkan peralihan dari tipe Th1 menjadi Th2. Transformasi yang dominan ke Th2 justru menghambat proteksi dan menimbulkan reaksi hipersensitivitas segera (tipe 1). Lebih lanjut, reaksi proteksi lokal imunitas selular pada mukosa vagina dapat berkurang atau hilang bersamaan dengan meningkatnya reaksi alergi.

Interleukin(IL)-1 memicu Th1 untuk memproduksi IL-2. IL-2 akan merangsang pembentukan Th1 lebih banyak. Th1 memproduksi IFN-gamma yang berfungsi menghambat pembentukan germ tube. Reaksi hipersensitivitas tipe 1 berhubungan dengan reaktivitas Th2, yang menghasilkan IL-4 dan meningkatkan produksi IgE melalui sel B serta lepasnya PGE2. PGE2 selanjutnya menghambat proliferasi dan produksi dari IL-2. Maka dari itu, adanya PGE2 akan menghambat kemampuan proteksi mukosa vagina terhadap Candida. Selain itu, PGE2 juga menghambat aktivitas makrofag. Dengan kata lain, PGE2 merupakan *down regulatory biological response modifier*. Sekitar 71% sekret vagina penderita kandidiasis vulvovagina rekurens (KVVR) dapat ditemukan IgE dan PGE2 sehingga reaksi hipersensitivitas tipe I memberikan respons yang akan merangsang terbentuknya IgE dan meningkatkan virulensi jamur melalui pembentukan germ tube atau melalui supresi pertahanan lokal pejamu. Di samping itu, reaksi hipersensitivitas tipe I menimbulkan tanda dan gejala kandidosis vaginal seperti kemerahan, gatal, terbakar dan bengkak. Dalam dinding sel Candida terdapat bahan polidispersi yang mempunyai berat molekul tinggi yang menginduksi proliferasi limfosit, produksi IL-2 dan IFN-gama, serta membangkitkan perlawanan sitotoksik sel NK. MP65 yang terdapat di dalam dinding sel *C albicans* merupakan antigen yang imunodominan untuk respons imunitas selular pada manusia normal dan mampu menstimulir produksi IL-1b, IFN-g, serta IL-6 (Felix, 2007).

Candida-Ag menyebabkan suatu peningkatan produksi prostaglandin E2 melalui makrofag. Prostaglandin ini menghambat produksi sitokin-interleukin 2 (IL-

2), dimana IL-2 ini yang mengatur proliferasi limfosit T normal. Hal ini akan memicu peningkatan proliferasi limfosit T anti-Candida dan akibatnya akan terjadi penurunan *Cell Mediated Immunity* (CMI), sehingga seseorang mudah terinfeksi oleh Candida. Respon hipersensitif lokal pada vagina menghasilkan produksi antibodi IgE melepaskan histamin, selanjutnya mengaktivasi sel imun suppressor dan produksi prostaglandin E2 oleh makrofag. Peningkatan prostaglandin E2 menyebabkan penurunan CMI terhadap *Candida*. Imunitas terhadap *Candida* ditentukan oleh keberhasilan sel limfosit T dan makrofag dalam menghancurkan sel *Candida*. *Innate immunity* (imunitas alami) merupakan respon imun terdepan terutama makrofag yang paling potensial melawan *C. albicans*. Pertahanan tubuh melawan *C. albicans* tergantung pada banyaknya ingesti dan eliminasi *C. albicans* oleh teraktivasinya sel imun dalam reaksi imun cepat terutama neutrofil, makrofag dan monosit. Sel imun teraktivasi melepaskan mediator pro inflamasi $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$ dan $INF\gamma$ selanjutnya memfagositosis jamur dan melepaskan oksigen dan nitrogen radikal beracun bagi sel jamur sehingga mengeliminasi jamur patogen tersebut. Stimulasi produksi sitokin pro inflamasi dan aktivasi reaksi cepat sistem imun tergantung pada ketepatan dalam mengenali jamur patogen terhadap struktur mikroorganisme sederhana "*Pathogen-associated Molecular Pattern* (PAMPs)". TLR2 merupakan salah satu reseptor *Pathogen Recognition Receptor* (PRRs) paling penting dalam mengenali *C. albicans* dengan cara pengenalan β -glukan untuk memicu produksi sitokin (Netea, *et al.*, 2006). Selain itu dalam menghadapi invasi *Candida* tubuh

mengerahkan sel fagosit untuk mengeliminasinya, IFN γ akan memblokir transformasi dari bentuk spora menjadi hifa sebaliknya tidak demikian pada pejamu dengan defek imunitas (Anonimus, 2008).

Respon imunologis pada infeksi *Candida* adalah sistem kekebalan selular, imunitas terhadap *Candida* ditentukan oleh keberhasilan sel limfosit T dan makrofag dalam menghancurkan sel *Candida*. Limfosit T bertindak selaku regulator utama dalam pertahanan pejamu memproduksi sitokin IL-2 dan IFN γ . Sitokin akan merangsang sel efektor PMN, makrofag dan sel *Natural Killer* (NK cell) untuk meningkatkan aktifitas kandidisidal. Sel mononuklear wanita sehat akan memproduksi TNF dan IL-1. IL-1 merupakan sitokin yang memicu produksi IL-2 oleh TH1. IL-2 akan merangsang replikasi TH1 selanjutnya memproduksi IFN γ yang dapat menghambat pembentukan *germ tube*. Peranan CD8 $^+$ dalam patogenesis dan resolusi infeksi pada kandidiasis mungkin membantu melisis PMN yang terinfeksi, memproduksi sitokin untuk mengaktifkan sel fagosit dan memodulasi aktifitas efektor sel-sel CD4 $^+$. Sitokin penting sebagai penghubung antara limfosit T dan sel fagosit serta untuk koordinasi sel T (Andrean *et al.*, 2007).

2.2.6 Faktor predisposisi

Faktor –faktor predisposisi dibagi dalam dua golongan yaitu yang memicu *Candida* nya sendiri untuk aktif berkembang biak (menjadi pathogen) dan yang menurunkan atau merusak sistem mekanisme pertahanan tubuh host baik lokal

maupun sistemik sehingga memudahkan invasi jaringan (Hay *et al.*, 1992; Barakbah, 1992; Kuswadji, 1999; Sobel, 1999; Sugiman *et al.*, 2000; Murtiastutik, 2008).

a. Faktor Host (*Predisposing host factor*)

Keadaan yang dapat mempengaruhi terjadinya kandidiasis vaginalis adalah menurunnya daya tahan tubuh penderita, kehamilan, diabetes mellitus, hormon steroid terutama kontrasepsi oral atau kortikosteroid, penggunaan antibiotik dalam jangka waktu lama, kelainan imunologik, obesitas, dan faktor-faktor lokal adanya perubahan lingkungan daerah vagina atau reaksi hipersensitifitas seperti pakaian dalam terlalu ketat, *doucher*, *chlorinated water* atau *tissue toilet*.

Kehamilan

Peningkatan kadar hormon estrogen yang terjadi pada kehamilan menyebabkan pH vagina menjadi lebih asam sangat baik untuk pertumbuhan *Candida* dan kadar glikogen di vagina meningkat merupakan sumber karbon yang baik untuk pertumbuhan *Candida*. Diduga estrogen meningkatkan perlekatan *Candida* pada sel epitel vagina dan secara langsung meningkatkan virulensi ragi.

Diabetes Mellitus

Pada Diabetes Mellitus terjadi kenaikan kadar glukosa dalam darah dan urin. Gangguan metabolisme karbohidrat dan perubahan proses glikogenesis menyebabkan kadar glikogen pada epitel vagina meninggi sehingga pertumbuhan *Candida* akan meningkat.

Kortikosteroid

Kortikosteroid merupakan bahan yang bersifat immunosupresif. Pemakaian kortikosteroid jangka waktu lama mengakibatkan pertumbuhan *Candida* tidak terkendalikan.

Antibiotika

Penggunaan antibiotika jangka waktu lama dapat membunuh bakteri *Doderlin* yang hidup bersama *Candida* sebagai komensal di vagina. Berkurangnya bakteri tersebut di dalam vagina menyebabkan *Candida* dapat tumbuh dengan subur karena tidak ada lagi persaingan dalam memperoleh makanan untuk menunjang pertumbuhan jamur.

Kontrasepsi

Penggunaan kontrasepsi oral tinggi estrogen akan terjadi peningkatan kolonisasi *Candida* di vagina. Pemakaian Alat Kontrasepsi Dalam Rahim (AKDR) didapatkan pertumbuhan *Candida* di vagina.

Daya tahan tubuh menurun.

Penyakit jamur sering ditemukan pada host yang immunokompromais (sistem imunitas menurun).

Faktor lokal

Penggunaan celana ketat atau bahan nilon, *doucher*, *tissue toilet* akan meningkatkan kelembaban dan suhu daerah perineal baik untuk pertumbuhan *Candida*. *Deodorant* dan *doucher* vagina menyebabkan membran mukosa

teriritasi dan dapat membunuh flora normal di vagina sehingga memudahkan terjadinya kandidiasis vaginalis.

b. Faktor yeast (*Predisposing yeast factor*)

Sekitar 50% penderita kandidiasis vaginalis dengan gejala simptomatik predisposisi faktor hostnya tidak diketahui. Faktor virulensi memegang peranan penting pada patogenesis infeksi. Keadaan ini menggambarkan bahwa kolonisasi asimptomatik yang lama disebabkan karena virulensi *Candida* yang lemah. Strain jamur mempunyai perbedaan dalam kemampuan menginvasi sel vagina, jumlah produksi protease (membantu invasi mukosa) dan pembentukan pseudohifa (membantu perlekatan dan invasi jamur).

2.2.7 Gambaran klinis

Keluhan subyektif penderita dapat bervariasi dari ringan hingga berat. Keluhan yang paling menonjol pada penderita kandidiasis vaginalis adalah rasa gatal pada vagina disertai dengan keluarnya duh tubuh vagina (*fluor albus*). Kadang dijumpai adanya iritasi, rasa terbakar, dispareunia dan sakit bila buang air kecil. Pada keadaan akut duh tubuh vagina encer sedangkan pada kronis lebih kental. Duh tubuh vagina dapat berwarna putih atau kuning, tidak berbau atau sedikit berbau masam, menggumpal seperti *Cottage cheese* atau berbutir-butir seperti susu.

Pada pemeriksaan dijumpai bentuk eksematoid dengan hiperemi ringan hingga ekskoriasi dan ulserasi pada labia minora, introitus vagina sampai dinding vagina terutama sepertiga bagian bawah. Pada keadaan kronis dinding vagina dapat atrofi, iritasi dan luka yang menyebabkan dispareunia. Kadang dijumpai gambaran

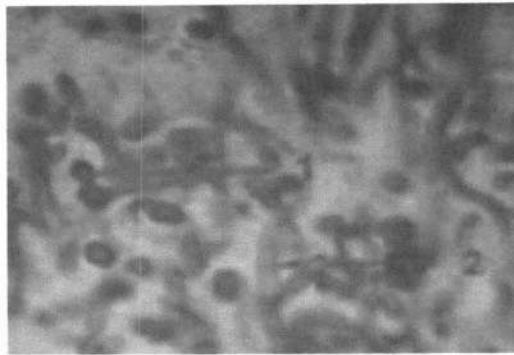
khas adanya vaginal trush yaitu bercak putih terdiri atas gumpalan jamur, jaringan nekrosis sel epitel yang menempel pada dinding vagina. Pada pemeriksaan kolposkopi tampak adanya dilatasi dan meningkatnya pembuluh darah pada dinding vagina atau serviks sebagai tanda peradangan.

2.2.8 Diagnosis

Diagnosis kandidiasis vaginalis ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan klinis, pemeriksaan laboratorium mikroskopis atau biakan. (Soedarmadi, 1990; Horowitz, 1992; Martin, 1992; Denning, 1995 dan Murtiastutik, 2008).

a. Pemeriksaan Mikroskopis

Cara yang paling sederhana mengambil cairan vagina dari fornix vagina dengan bantuan spekulum, selain itu dapat pula diambil dari pseudomembran. Bahan pemeriksaan selanjutnya dibuat sediaan langsung dengan KOH 10% (kepekaannya hanya 40%) atau dengan pewarnaan gram (tidak terlalu sensitif). Pada pemeriksaan mikroskopis dapat dijumpai *Candida* dalam bentuk sel ragi (yeast form) yang berbentuk oval, fase blastospora berupa sel-sel tunas berbentuk *germ tubes* atau *budding* dan pseudohifa sebagai sel-sel memanjang seperti sosis yang tersusun memanjang. Pada sediaan dengan pewarnaan gram, bentuk ragi bersifat gram positif, berbentuk oval, kadang-kadang berbentuk germ tube atau budding. *C. albicans* adalah satu-satunya ragi patogen penting yang secara *in vivo* menunjukkan adanya pseudohifa yang banyak dan mudah dideteksi dari duh tubuh vagina dengan pewarnaan gram.



Gambar 2.5 Blastospora dan pseudohifa

b. Pemeriksaan biakan (kultur)

Biakan jamur mempunyai nilai sensitivitas yang tinggi sampai 90%. Bahan pemeriksaan dibiakan pada media Sabouraud Dextrose Agar, dapat dibubuhi antibiotik klorampenikol untuk mencegah pertumbuhan bakteri. Pembenuhan ini disimpan pada suhu kamar atau suhu 37°C. Koloni tumbuh setelah 24-48 jam berupa yeast like kolony, warna putih kekuningan, ditengah dan dasarnya warnanya lebih tua, permukaannya halus mengkilat dan sedikit menonjol.



Gambar 2.6 Koloni *C albicans*

2.2.9 Kandidiasis vaginalis berulang

Sebagian wanita penderita kandidiasis vaginalis simptomatik tidak menunjukkan respon yang baik terhadap terapi dan timbul keadaan infeksi kronik. Penyebab timbulnya keadaan ini adalah faktor host dan faktor organisme penyebab infeksi. Timbulnya kandidiasis vaginalis berulang menunjukkan bahwa terapi pertama telah gagal. Kemungkinan disebabkan adanya organisme yang tersembunyi dalam lumen atau dalam jaringan mukosa vagina. Beberapa faktor yang memegang peranan penting berhasilnya pengobatan kandidiasis vaginalis berulang adalah kebersihan pribadi penderita, mencari dan memberantas sumber infeksi berulang dan infeksi baru kandidiasis vaginalis. Diduga yang menjadi sumber infeksi kandidiasis vaginalis berulang adalah tinja yang mengandung *Candida*, kulit lipat paha dan genitalia pasangan seksual mengandung *Candida*, kuku dan kotoran di bawah kuku mengandung *Candida* serta air yang terkontaminasi *Candida* (Murtiastutik, 2008).

2.2.10 Diagnosis banding

a. Trikomoniasis

Sekret banyak dan encer, warna kekuningan, berbusa, berbau, tidak enak dan jarang terdapat lesi kulit.

b. Bakterial vaginosis

Sekret encer, tipis dan homogen, warna putih atau keabu-abuan serta berbau amis. Tidak ditemui inflamasi pada vagina dan vulva.

c. Gonore

Sekret lebih sedikit, berwarna kuning sampai hijau.

d. Leukore fisiologis

Sekret berupa mukus yang banyak mengandung epitel, jarang terdapat leukosit, tidak berbau.

e. Infeksi genital non spesifik

Terbanyak disebabkan oleh *chlamidia trachomatis* dan *ureaplasma urealiticum*.

Klinis berupa sekret kekuningan. Pada pemeriksaan mikroskopis hanya jumlah leukosit yang meningkat.

2.2.11 Penatalaksanaan

1) Macam-macam obat anti jamur

Terapi kandidiasis vaginalis baik akut maupun kronis telah banyak tersedia obat-obat anti mikosis secara topikal maupun oral sistemik.

a. Tanpa komplikasi

Diberikan pengobatan topikal dosis tunggal selama 3 hari. Derivat azole lebih efektif daripada nystatin tetapi harganya lebih mahal. Pengobatan dengan golongan azole dapat menghilangkan gejala dan kultur negatif pada 80 – 90% penderita yang mendapat pengobatan.

Obat-obatan topikal yang dapat diberikan :

Klotrimazole krim 1% intra vagina 7 – 14 hari.

Klotrimazole 100 mg tablet vagina 7 hari.

Klotrimazole 100 mg tablet vagina diberikan 2 tablet selama 3 hari.

Klotrimazole 500 mg intra vagina diberikan dosis tunggal.

Nystatin tablet vagina 100.000 u tiap hari selama 12 – 14 hari.

Amphotericin B tablet vagina 50 mg (kombinasi dengan tetrasiklin 100 mg) diberikan 1 – 2 tablet/hari selama 7 – 14 hari.

Miconazole 2% krim 1 – 7 hari.

Mikonazole tablet vagina 200 mg/hari selama 1 – 7 hari.

Untuk obat oral dapat diberikan :

Ketokonazole 2 x 200 mg per hari selama 5 hari.

Flukonazole 150 mg dosis tunggal atau 50 mg/hari selama 7 hari.

Itrakonazole 100 mg 2 x sehari selama 2 hari atau 2 x 200 mg selama sehari selang 8 jam.

Infectious Disease Society of America (IDSA) mengeluarkan panduan terapi untuk kandidiasis merekomendasikan penggunaan flukonazole dan vorikonazole sebagai terapi utama atau alternatif untuk berbagai jenis infeksi yang disebabkan oleh *Candida* (Pappas *et al.*, 2004). Sedangkan untuk mengatasi kandidiasis genital (khususnya kandidiasis di vagina), WHO (World Health Organization) dan CDC (United States Department of Health and Human Services – Centers for Disease Control and Prevention) merekomendasikan flukonazole dosis tunggal yang diberikan secara oral (WHO, 2003 dan CDC, 2006).

b. Dengan komplikasi

Infeksi rekuren diberikan obat-obatan :

Obat oral Flukonazole 150 mg selama 3 hari atau topical golongan azole selama 7 – 14 hari. Untuk pengobatan rumatan diberikan tablet ketokonazole 100 mg/hari, kapsul flukonazole 100 – 150 mg/minggu atau itrakonazole 400 mg/bulan atau 100 mg/hari atau obat topical tablet vagina klotrimazole 500 mg. Pengobatan rumatan diberikan selama 6 bulan.

c. Kandidiasis berat:

Kandidiasis berat ditandai dengan vulva eritema, edema, ekskoreasi dan fisur. Terapi diberikan flukonazole 150 mg dengan 2 dosis selang waktu pemberian 72 jam atau obat topical golongan azole selama 7 – 14 hari.

Pada ibu hamil diberikan:

Mikonazole krim 2% sebanyak 5 gram intra vagina selama 7 hari atau 100 mg tablet vagina tiap malam selama 7 hari atau mikonazole 200 mg vaginal suppositoria selama 3 hari.

Klotrimazole krim 1% sebanyak 5 gram tiap malam selama 7 – 14 hari atau 200 mg tablet vagina tiap malam selama 3 hari atau 500 mg tablet vagina selama 1 hari.

Terkonazole krim 0,4% sebanyak 5 gram intravaginal selama 3 hari =atau 80 mg suppositoria selama 3 hari.

2) Mekanisme kerja obat anti jamur

(Valentina, 2009).

a. Amphoteresin B

Amphoteresin B adalah polyene antibiotik makrosiklik yang dihasilkan oleh *Streptomyces nodusus*. Jenis obat ini telah menjadi pilihan utama untuk menanggulangi infeksi jamur yang berat.

Amphoteresin B mengikat ergosterol, yaitu sterol dasar di dalam membran sel jamur yang menyebabkan rusaknya fungsi pelindung membrane, hilangnya konstituen sel, gangguan metabolisme dan kematian sel. Obat ini juga menyebabkan gangguan oksidasi pada sel jamur.

b. Kotrimazol

Sebagai obat anti jamur menghambat sintyesa ergosterol (suatu komponen yang esensial dari membran se jamur). Bila blok bangunan penting ini hilang, membran sel akan rusak, isi sel mengalir dan kemudian menyebabkan kehancuran jamur tersebut. Kotrimazol memiliki tusukan sempurna terhadap semua jamur termasuk jamur yang menyebabkan infeksi jamur vagina. (anonimus, 2008)

c. Ketokonazol

Ketokonazol adalah senyawa imidazol dioksolane sintesis. Diberikan secara oral maupun topikal.

Seperti azole jenis lain, ketokonazol berinterferensi dengan biosintesis ergosterol yang menyebabkan perubahan sejumlah fungsi sel yang berhubungan dengan membran.

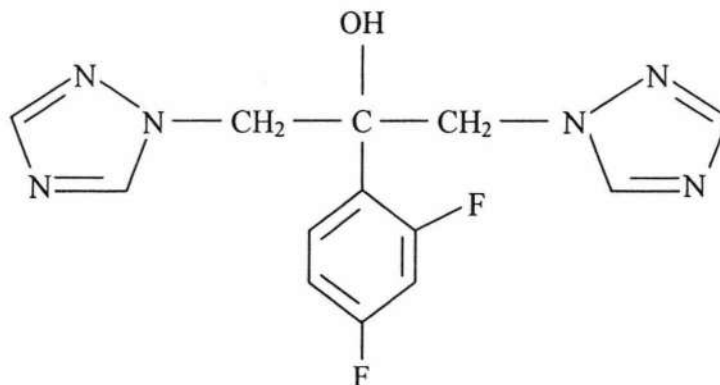
Sebelum diperkenalkannya flukonazol dan itrakonazol, ketokonazol diakui sebagai obat yang tepat untuk menanggulangi penyakit *Candidosis mucocutaneus* kronis.

d. Itrakonazol

Itrakonazol adalah senyawa triazole dioksolan sintesis.

Itrakonazol berinterferensi dengan enzim yang dipengaruhi oleh cytochrome P-450, 14- demethylase. Interferensi ini menyebabkan akumulasi 14-methylsterol dan menguraikan ergosterol di dalam sel-sel jamur dan kemudian mengganti sejumlah fungsi sel yang berhubungan dengan membran.

e. Flukonazol



Gambar 2.7 Struktur kimia Flukonazol

Flukonazol adalah jenis ikatan bis-triazole sintesis. Inhibitor yang potensial dari biosintesis ergosterol, yaitu melalui pengaruhnya terhadap enzim yang bergantung pada cytochrome P-450, lastronerol 14-demethylase. Pengurangan ergosterol yang merupakan sterol utama terdapat di dalam membran sel-sel jamur dan akumulasi sterol yang mengalami metilase menyebabkan terjadinya perubahan sejumlah fungsi sel yang berhubungan dengan membran. Spektrum luas dan aktif terhadap *C albicans* juga Candida lain.

f. Nystatin

Nistatin adalah suatu antibiotika polien, struktur, rumusan kimia, mekanisme kerja dan resistensi mirip dengan amphoteterisin B. penggunaan terhadap *Candida* secara topikal terbatas karena toksisitas sistemiknya. Obat ini tidak diabsorpsi di saluran cerna dan tidak pernah digunakan secara parenteral.

g. Mikonazol

Mikonazol adalah senyawa imidazole phenetyl sintesis.

Seperti halnya azole jenis lain, mikonazol berinterferensi dengan biosintesis ergosterol sehingga menyebabkan perubahan sejumlah fungsi sel yang berhubungan dengan membran. Pada konsentrasi yang tinggi mikonazol berinteraksi dengan lemak membran dan menyebabkan

kerusakan membran secara langsung yang pada akhirnya berlanjut pada kerusakan konstituen-konstituen sel.

Berbagai jenis obat anti jamur mempunyai mekanisme kerja dengan target utamanya adalah dinding sel *C albicans*.

2.2.12 Pencegahan

Usaha pencegahan terhadap timbulnya kandidiasis vaginalis meliputi penanggulangan faktor predisposisi dan penanggulangan sumber infeksi yang ada. Selain itu sistem kekebalan tubuh yang sehat dapat menjaga agar *Candida* tetap seimbang.

2.2.12 Komplikasi

Kandidiasis vaginalis jarang menimbulkan komplikasi pada penderita yang imunokompeten. Komplikasi yang paling mengganggu adalah adanya infeksi berulang terutama pada penderita yang mempunyai predisposisi terjadinya infeksi. Pada kehamilan walaupun sering terjadi rekurensi tapi jarang menimbulkan infeksi serius. Komplikasi yang dapat terjadi pada ibu hamil adalah kemungkinan menjalarnya infeksi ke atas dan menimbulkan penyebaran hematogen. Komplikasi yang dapat terjadi adalah kandidiasis oral dan kutis kongenital terutama daerah popok, abortus spontan, kandidiasis intra uterine, korioamnionitis, sepsis, abses otak dan peritonitis. Kandidiasis vaginalis paling sering menimbulkan *vaginitis* dan dalam keadaan kronis dinding vagina menjadi atrofi, iritasi, luka dan dispareunia. Infeksi ini bisa

menimbulkan masalah infertilitas karena *vaginitis* akan meningkatkan kadar keasaman vagina yang akan membunuh sperma dan pengkerutan vagina menghambat transportasi sperma ke vagina.

2.3 *C albicans*

2.3.8 Klasifikasi

Klasifikasi *C albicans* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi

Phylum : Ascomycota

Subphylum : Saccharomycotina

Class : Saccharomycetes

Ordo : Saccharomycetales

Familia : Saccharomycetaceae

Genus : *Candida*

Species : *Candida albicans*

Synonim : *Candida stellatoidea* dan *Oidium albicans*

C albicans merupakan komponen flora normal pada saluran makanan dan juga ditemukan pada membran mukokutaneus host yang sehat dan tidak infeksius pada host yang imunokompeten. Keadaan patogen (infeksius) bisa terjadi pada seseorang dengan gangguan imunitas atau imunosupresi. *C albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk pseudohifa. Pseudohifa terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau

lonjong di sekitar septum. *C albicans* dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5 – 6,5 dan dalam perbenihan pada suhu 28°C – 37°C.

C albicans membutuhkan senyawa organik sebagai sumber karbon dan sumber energi untuk pertumbuhan dan proses metabolismenya. Unsur karbon tersebut dapat diperoleh dari karbohidrat. Jamur ini merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Proses peragian dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Proses peragian (fermentasi) pada *C albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob, suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO₂. Proses akhir fermentasi anaerob menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan untuk proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi karbohidrat digunakan sebagai sumber karbon maupun sumber energi untuk melakukan pertumbuhan sel. *C albicans* dapat dibedakan dari spesies lain berdasarkan kemampuannya melakukan proses fermentasi dan asimilasi. Pada kedua proses ini dibutuhkan karbohidrat sebagai sumber karbon. Pada proses fermentasi jamur ini menunjukkan hasil terbentuknya gas dan asam pada glukosa dan maltosa, terbentuknya asam pada sukrosa dan tidak terbentuknya asam dan gas pada laktosa. Pada proses asimilasi menunjukkan adanya pertumbuhan pada glukosa, maltosa dan sukrosa namun tidak menunjukkan pertumbuhan pada laktosa.

Morfologi *C albicans* pada medium padat agar *Saburoud's Dekstrosa*, umumnya berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Umur biakan mempengaruhi besar kecil koloni. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Pada medium cair seperti *glucose yeast, extract pepton, C albicans* tumbuh di dasar tabung. Pada medium tertentu, antara lain agar tepung jagung, agar tajin atau agar dengan 0,1% glukosa terbentuk klamidospora terminal berdinding tebal dalam waktu 24-36 jam. Pada medium agar eosin metilen biru dalam waktu 24 jam terbentuk koloni menyerupai laba-laba atau pohon cemara. Pada medium yang mengandung faktor protein, misal putih telur, serum atau plasma darah dalam waktu 1-2 jam pada suhu 37°C terjadi pembentukan kecambah dari blastospora. *Yeast C albicans* adalah patogen oportunistik yang mengancam seseorang dengan sistem *immunocompromise* (Reiss *et al.*, 1992).

Virulensi *C albicans* ditentukan adanya dua faktor yaitu :

1) Dinding sel *C albicans*

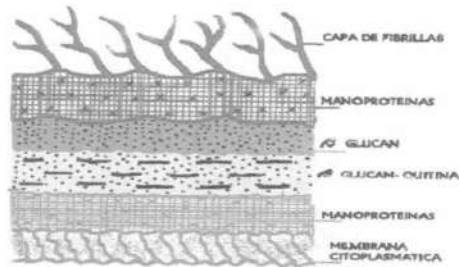
Dinding sel berperan penting karena merupakan bagian yang berinteraksi langsung dengan sel pejamu. Dinding sel *C albicans* mengandung zat penting untuk virulensinya, antara lain turunan *mannoprotein, β -glukan dan khitin* yang mempunyai sifat immunosupresif sehingga mempertinggi pertahanan jamur terhadap imunitas pejamu. *Candida* tidak hanya menempel tapi juga penetrasi ke dalam mukosa. Enzim *proteinase aspartil* membantu *Candida* pada tahap awal invasi jaringan untuk

menembus lapisan mukokutan yang berkeratin dan berperan dalam pembentukan hifa (Netea *et al.*, 2006 ; Andrean *et al.*, 2007).

C albicans memiliki dinding sel berlapis yang tersusun atas lapisan luar dan lapisan dalam. Lapisan luar tersusun atas protein terglykosilasi oleh residu manosil yang terikat pada atom -O- dan -N-. Lapisan dalam tersusun atas β -glucans dan chitin berfungsi sebagai kerangka sel. Pengenalan β -glucans oleh kompleks reseptor *dectin-1/TLR2* memicu produksi sitokin. Dinding sel *C albicans* berfungsi sebagai pelindung (memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya) dan juga sebagai target antimikotik. Dinding sel berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik (Segal, 1994). Dinding sel *C albicans* terdiri dari enam lapisan yang berbeda, yaitu :

(Riana, 2006)

1. *Fibriae*
2. *Manoprotein*
3. β *Glucan*
4. β *Glucan-chitin*
5. *Zone of manoprotein*
6. *Plasma Membrane*



Gambar 2.8 Dinding sel *C albicans*

2) Sifat dimorfik *Candida*

Faktor virulensi yang lain adalah sifat dimorfik *Candida* karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas (*budding cell*) blastospora yang akan berkembang menghasilkan kecambah membentuk pseudohifa. Perbedaan bentuk ini tergantung dari faktor eksternal yang mempengaruhinya. Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5\mu \times 3-6\mu$ hingga $2-5,5\mu \times 5-28\mu$.

Terdapat dua bentuk utama yaitu bentuk ragi (blastospora) dan bentuk pseudohifa. Dalam keadaan patogen *C albicans* lebih banyak ditemukan dalam bentuk pseudohifa dibandingkan blastospora. Perubahan dari komensal menjadi patogen merupakan adaptasi terhadap perubahan lingkungan sekitarnya. Pertumbuhan dan perubahan bentuk dari ragi menjadi hifa yang lebih invasif juga dipengaruhi oleh imunitas selular. Bentuk hifa mempunyai virulensi lebih tinggi oleh karena ukurannya lebih besar, sehingga sulit difagositosis makrofag. Hifa *C albicans* memiliki *sense of touch* sehingga dapat tumbuh sepanjang alur melalui pori-pori yang akan membantu

infiltrasi permukaan epitel selama invasi jaringan. Hidrofobisitas permukaan sel *C albicans* berperan penting dalam adhesi organisme. Glikolisasi sel mannoprotein mempengaruhi hidrofobisitas, berpengaruh terhadap adhesi *C albicans* pada sel epitel. Senyawa mannan (glikoprotein pada permukaan sel *C albicans*) berkontribusi pada virulensi *C albicans* melalui 2 mekanisme yaitu :

- a. Mempengaruhi hidrofobisitas permukaan sel yeast menyebabkan perubahan perlekatan pada jaringan pejamu.
- b. Menekan respon imun melalui mekanisme yang sepenuhnya belum diketahui.

Disamping itu terdapat titik-titik blastokonidia multipel pada satu filament yang menyebabkan jumlah elemen infeksius menjadi lebih besar (Elias, 2003; Winarno dan Noroyono, 2005; Netea *et al.*, 2006; Andrean *et al.*, 2007). Produksi enzim oleh *Candida* merupakan faktor virulensi penting yaitu aspartil proteinase dan fosfolipase (Elias, 2003).

Menempelnya mikroorganisme dalam *jaringan* sel pejamu menjadi syarat mutlak untuk berkembangnya infeksi. Secara umum diketahui bahwa interaksi antara mikroorganisme dan sel pejamu diperantarai oleh komponen spesifik dari dinding sel, adhesin dan reseptor. Manan dan mannoprotein merupakan molekul yang mempunyai sifat adesif. Adesi merupakan syarat terjadinya kolonisasi. Khitin merupakan komponen kecil yang terdapat pada dinding selnya. Setelah terjadi penempelan akan berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Saat itu enzim yang berperan adalah aminopeptidase dan asam fosfatase. Umumnya *C albicans* berada dalam tubuh

manusia sebagai saprofit dan infeksi akan terjadi bila terdapat faktor predisposisi tubuh pejamu (Richardson *et al*, 1991; Segal, 1994; Andrian *et al.*, 2007).

2.4 Makrofag

Makrofag adalah komponen seluler yang berperan sebagai sel efektor dalam respon imun alami selular dengan fagositosisnya dan sebagai sel penyaji (*Antigen Presenting Cell* = APC) kepada limfosit TH dalam rangka pengenalan epitop pada respon imun adaptif humoral. Sel makrofag berperan sebagai sel yang mempresentasikan antigen (APC). Mikroba bakteri dan antigen protein terlarut dipecah dalam fagolisosom menjadi partikel berukuran kecil. Partikel ini kemudian ditampilkan di permukaan sel berikatan dengan molekul peptide MHC kelas II dan akan dikenal oleh sel TH. (Subowo, 2009).

Perkembangan sel makrofag

Makrofag berasal dari sel precursor dari sumsum tulang dari promonosit yang akan membelah menjadi monosit yang beredar dalam darah. Selanjutnya masuk ke jaringan ikat monosit menjadi matang dan menjadi sel makrofag. Di dalam jaringan makrofag dapat berproliferasi secara lokal menghasilkan sel sejenis lebih banyak. Dalam keadaan sehat, makrofag merupakan fase akhir dalam siklus hidup monosit, setelah meninggalkan sumsum tulang monosit tinggal selama 8 – 74 jam dan melintasi dinding vena atau kapiler untuk menembus jaringan akhirnya menetap menjadi makrofag. Bila cukup dirangsang sel makrofag tumbuh besar membentuk sel epiteloid atau beberapa melebur

menjadi sel datia (sel raksasa) multinukleus ditemukan dalam keadaan patologis. Makrofag dalam jaringan merupakan sel panjang umur yaitu dapat bertahan hidup sampai berbula-bulan.

Pada waktu peradangan jumlah sel makrofag meningkat secara cepat disebabkan karena peningkatan kedatangan monosit yang baru dari peredaran darah ditambah dengan hasil pembelahan sel makrofag yang belum matang dalam jaringan. Di daerah peradangan sel makrofag tersebut menjadi aktif bersamaan dengan tampaknya perubahan bentuk dan fungsinya sebagai akibat pengaruh mediator (limfokin) yang dilepaskan oleh limfosit yang dirangsang antigen dan juga oleh pengaruh komponen komplemen.

Kadang dalam daerah radang ditemukan fagosit besar dengan inti banyak disebut sel datia atau giant cell. Sel datia tersebut berasal dari penyatuan beberapa sel makrofag atau dapat juga dari sebuah sel makrofag yang berulang-ulang mengadakan mitosis tanpa diikuti oleh sitokinesis.

Jika mikroba infeksius dapat melewati epithelium dan masuk jaringan subepitel makrofag akan mengenali mikroba dan memproduksi sitokin. Sitokin TNF dan IL-1 bekerja pada endotel pembuluh darah kecil di tempat infeksi. TNF dan IL-1 menstimuli endotel untuk mengekspresikan 2 molekul adesi yang disebut *selectin* dan *P-selectin*. Sel makrofag akan menjadi aktif atas pengaruh sitokin sehingga selnya lebih besar, membran plasmanya berlipat-lipat banyak

pseudopodia serta mempunyai kesanggupan membunuh mikroorganisme dan sel tumor.

Aktivasi sel makrofag

Limfosit T efektor dari sub populasi TH1 mengenali antigen yang dipaparkan oleh sel-sel makrofag akan mengaktifkan sel makrofag melalui molekul CD40 yang berinteraksi dengan ligannya (CD40L). Antigen yang dipaparkan oleh makrofag tersebut berupa polipeptida berasal dari pencernaan protein mikroba yang difagositosis oleh sel makrofag, serta dengan IFN- γ yang dilepaskan oleh sel TH1. Antigen yang dipaparkan oleh sel makrofag berupa polipeptida yang berasal dari hasil pencernaan protein mikroba yang difagositosis oleh sel makrofag. Polipeptida tersebut disajikan dengan MHC kelas II kepada limfosit TH1 yang akan dikenali secara spesifik oleh reseptor limfosit TH1 (T CD4⁺), ditanggapi dengan ekspresi molekul ligan CD40 (CD40L atau CD154), yang akan terikat oleh reseptor CD40 pada permukaan sel makrofag. Pada saat yang sama limfosit TH1 efektor tersebut melepaskan sitokin IFN- γ . Sel makrofag yang dilengkapi reseptor untuk IFN- γ akan mengikat IFN- γ tersebut. Maka dua sinyal dari limfosit TH1 yaitu CD40L dan IFN- γ yang diterima oleh sel makrofag akan memicu serangkaian kegiatan dalam sel makrofag untuk sintesis berbagai jenis enzim dalam lisosom bersifat mikrobisidal melalui oksigen reaktif dan nitrik oksida. Persyaratan interaksi

antara sel TH1 dan sel makrofag melalui ikatan CD40L-CD40, memberikan kepastian bahwa sel makrofag diaktifkan oleh sel T secara langsung. Sel makrofag yang diaktifkan tersebut sekaligus merupakan sel makrofag yang menyajikan peptida dari protein mikroba kepada limfosit TH1 yang mengaktifkan. Pelepasan IFN- γ oleh limfosit TH1 akan mempercepat aktifitas sel makrofag dan melipatgandakan responnya.

Sel makrofag yang telah memfagositosis mikroba menghasilkan IL-12 yang akan merangsang diferensiasi sel T CD4⁺ naïf menjadi limfosit TH1 yang nantinya melepaskan IFN- γ untuk merespon sel makrofag menyajikan antigen mikroba yang ditelannya. IL-12 juga memberikan efek meningkatkan IFN- γ dan kemudian menagktifkan fagosit untuk membunuh mikroba yang ditelannya. Limfosit T CD4⁺ selain mengaktifkan sel makrofag dalam imunitas selular juga mensekresi sitokin TNF, yang bekerja pada endotel pembuluh darah untuk meningkatkan molekul adesi dan produksi khemokin untuk peningkatan pengumpulan sel radang seperti sel T dan lekosit lain (netrofil dan monosit) di daerah infeksi. Maka respon sel T dilipatgandakan disertai penambahan jumlah sel makrofag untuk membantu membersihkan infeksi secara cepat. Selain itu limfosit T membantu limfosit T CD8⁺ dalam diferensiasinya menjadi CTL (limfosit sitotoksik) yang aktif dan membantu limfosit B memproduksi antibodi.

Eliminasi mikroba oleh sel makrofag teraktifkan

Sel makrofag yang teraktifkan berperan membunuh mikroba dan melepaskan sitokin TNF, IL-1 dan kemokin yang akan merangsang penimbunan sel netrofil, monosit dan limfosit T di daerah infeksi. Sel makrofag juga melepaskan sitokin lain PDGF (*platelet-derived growth factor*) yang merangsang pertumbuhan dan aktifitas fibroblast serta sel endotel untuk memperbaiki jaringan setelah infeksi bersih. Aktivasi sel makrofag juga meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas II dan stimulator akan memperkuat penyajian antigen sehingga meningkatkan aktivasi limfosit T dan melipatgandakan reaksi imun selular disertai penambahan jumlah sel makrofag untuk membantu membersihkan infeksi secara cepat (Subowo, 2009).

2.5 *Rattus norvegicus*



Gambar 2.9 *Rattus norvegicus*

Klasifikasi *Rattus norvegicus* adalah :

Kerajaan : Animalia

Phylum : Chordata

Class : Mammalia

Ordo : Rodentia

Familia : Muridae

Upafamilia : Murinae

Genus : Rattus

Species : *Rattus norvegicus*

Rattus norvegicus merupakan salah satu hewan yang sering digunakan sebagai hewan coba (penelitian pra klinik) karena memiliki struktur dan fungsi organ tubuh mirip manusia juga respon terhadap pengaruh bahan yang dicobakan. Ukuran tubuh *Rattus norvegicus* lebih besar daripada mencit sehingga lebih disukai untuk hewan coba penelitian. Lambung tikus terdiri dari dua bagian yaitu nonglandular dan glandular, small intestine terdiri dari duodenum, jejunum dan ileum. Tikus tidak pernah muntah, tidak memiliki kelenjar empedu. Pada umur 2 bulan berat badan mencapai 200 – 300 gram. Tikus tergolong hewan yang mudah dipegang, dikendalikan atau dapat diambil darahnya dalam jumlah relatif besar. Vagina tikus membuka pada umur 34 – 109 hari (Diah, 2004).

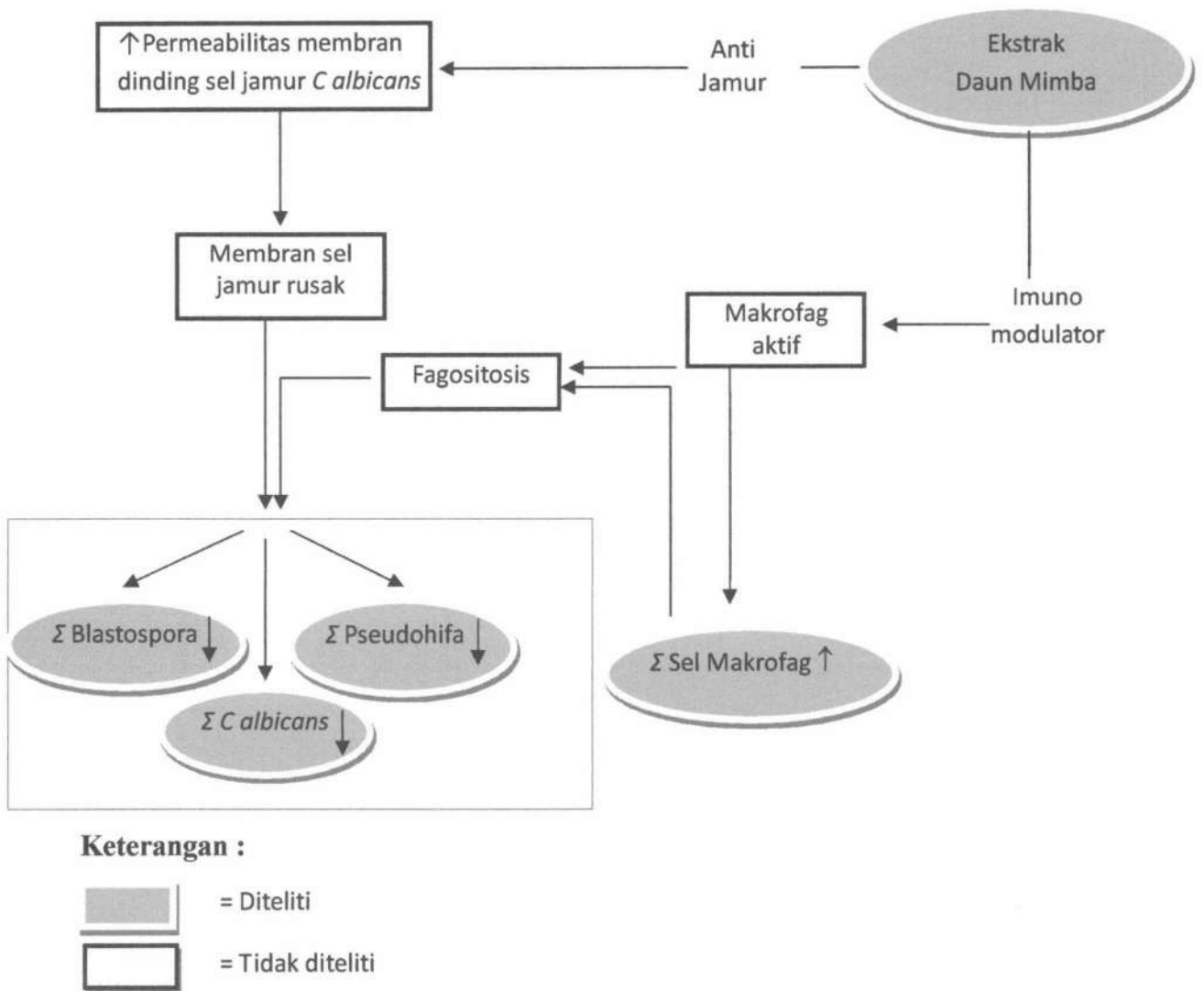
Data Biologi *Rattus norvegicus*

Lama hidup	2-3 tahun, bisa 4 tahun
Lama bunting	20-22 hari
Kawin setelah beranak	1-24 jam
Umur sapih	21 hari
Umur dewasa	40-60 hari
Umur dikawinkan	10 minggu
Siklus kelamin	poliestrus
Siklus estrus	4-5 hari
Lama estrus	9-20 jam
Berat dewasa	Jantan (300-400 g), betina (250-300 g)
Berat lahir	5-6 g
Jumlah anak	± 9 ekor, bisa 20
Puting susu	12 puting
Gigi	1003 gigi seri tumbuh terus 1003
Kecepatan tumbuh	5 g/hari
Suhu rektal	36-39°C

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Ekstrak daun mimba dapat dipakai sebagai obat anti jamur pada kandidiasis vaginalis yang disebabkan oleh *C albicans*. Ekstrak daun mimba yang diberikan secara oral diabsorpsi dengan cepat dalam mukosa membran usus diedarkan dalam darah dan diabsorpsi dalam jaringan. Kandungan bioaktif daun mimba berperan sebagai anti jamur dan imunomodulator. Sebagai anti jamur daun mimba mengandung *nimbin*, *nimbidin*, *trisulphide*, *tetrasulphide*. Kandungan antijamur dapat merusak membran sel jamur dengan merubah permeabilitas membran sel yang kemudian terbentuk pori-pori sehingga membran sel menjadi bocor mengakibatkan kematian sel jamur. Selain itu kandungan sulfur pada daun mimba diduga dapat berkompetisi dengan oksigen pada sel jamur, sehingga menyebabkan terjadinya toksisitas pada jamur dan menyebabkan kematian jamur. Kandungan imunomodulator *galic acid*, *epicatechin* dan *catechin* akan memodulasi PMN (komponen utama seluler berperan dalam pertahanan tubuh primer), limfosit T (berperan sebagai regulasi sistem imun) dan makrofag (sel fagositik pembunuh mikroorganisme).

Sel makrofag yang teraktifkan berperan membunuh mikroba dan melepaskan sitokin TNF, IL-1 dan kemokin yang akan merangsang penimbunan sel netrofil, monosit dan limfosit T di daerah infeksi. Sel makrofag juga melepaskan sitokin lain PDGF (*platelet-derived growth factor*) yang merangsang pertumbuhan dan aktifitas fibroblast serta sel endotel untuk memperbaiki jaringan setelah infeksi bersih. Aktivasi sel makrofag juga meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas II dan stimulator akan memperkuat penyajian antigen sehingga meningkatkan aktivasi limfosit T dan melipatgandakan reaksi imun selular disertai penambahan jumlah sel

makrofag untuk membantu membersihkan infeksi secara cepat. Kematian *C albicans* inilah menyebabkan terjadinya penurunan blastospora dan hilangnya pseudohifa serta penurunan jumlah koloni *C albicans*.

3.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah :

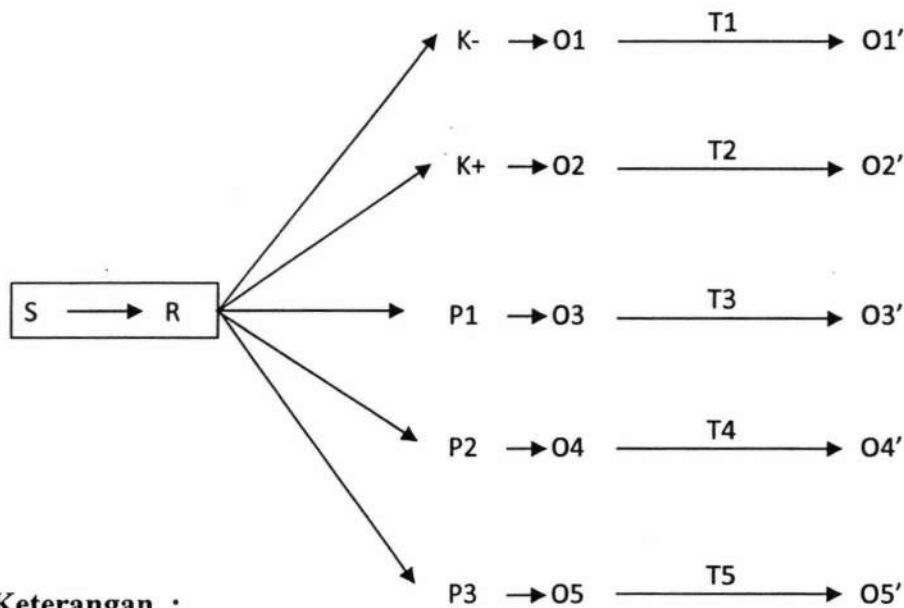
1. Terdapat penurunan jumlah blastospora setelah pemberian ekstrak daun mimba.
2. Terdapat penurunan jumlah pseudohifa setelah pemberian ekstrak daun mimba.
3. Terdapat penurunan jumlah koloni *C albicans* setelah pemberian ekstrak daun mimba.
4. Terdapat peningkatan jumlah sel makrofag setelah pemberian ekstrak daun mimba.

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *randomized pre test and post test control group design* (Nasution, 2004). Secara sistematis rancangan penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut :



Keterangan :

S : Unit eksperimen

R : Randomisasi

K- : Kelompok kontrol negatif tidak diberi apapun.

K+ : Kelompok kontrol positif diberi obat anti jamur dengan dosis 0.035 mg/kgBB tikus.

- P1 : Kelompok perlakuan 1 diberi ekstrak daun mimba dosis 19 mg/100 BB tikus.
- P2 : Kelompok perlakuan 2 diberi ekstrak daun mimba dosis 57 mg/100 BB tikus.
- P3 : Kelompok perlakuan 3 diberi ekstrak daun mimba dosis 95 mg/100 BB tikus.
- T1 : Perlakuan kelompok kontrol negatif
- T2 : Perlakuan kelompok kontrol positif
- T3 : Perlakuan kelompok 1
- T4 : Perlakuan kelompok 2
- T5 : Perlakuan kelompok 3
- O1 : Hasil observasi kelompok kontrol negatif sebelum perlakuan
- O2 : Hasil observasi kelompok kontrol positif sebelum perlakuan
- O3 : Hasil observasi kelompok 1 sebelum perlakuan
- O4 : Hasil observasi kelompok 2 sebelum perlakuan
- O5 : Hasil observasi kelompok 3 sebelum perlakuan
- O1' : Hasil observasi kelompok kontrol negatif setelah perlakuan
- O2' : Hasil observasi kelompok kontrol positif setelah perlakuan
- O3' : Hasil observasi kelompok 1 setelah perlakuan
- O4' : Hasil observasi kelompok 2 setelah perlakuan
- O5' : Hasil observasi kelompok 3 setelah perlakuan

4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi

4.2.1 Unit Eksperimen

Unit eksperimen adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar berumur 4 bulan dengan berat sekitar 200 – 250 g yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. *Rattus norvegicus* strain wistar telah diketahui dapat menimbulkan respons imun yang mirip dengan manusia. Selain itu tikus adalah salah satu hewan coba yang telah terbukti digunakan untuk melihat respons imun *C albicans*. (Samaranayake *et al.*, 2001). Pemeliharaan tikus dalam kandang telah diusahakan dalam kondisi perawatan yang sama yaitu tentang makanan dan minuman, situasi kandang, jenis, spesies, dan umur..

4.2.2 Replikasi

Jumlah replikasi ditetapkan menurut rumus Steel & Torrie (1980) sebagai berikut :

$$r \geq \frac{2(Z_{(1-\alpha)} + Z_{(1-\beta)})^2 \cdot \sigma^2}{\delta^2}$$

$$r \geq \frac{2(1,645 + 0,842)^2 \cdot 11,664^2}{(39,600 - 59,067)^2}$$

$$r \geq 4,43 \rightarrow 5$$

$$\text{faktor koreksi : } r \geq 5 \times \frac{1}{1-0,1} = 5,55 \rightarrow 6$$

dimana :

r : jumlah replikasi

$z_{1-\alpha}$: nilai distribusi normal baku (tabel z) pada α tertentu
($\alpha = 0,05$; $z = 1,645$).

$z_{1-\beta}$: nilai distribusi normal baku (tabel z) pada β tertentu
($\beta = 0,20$; $z = 0,842$).

σ (SD) : harga varians di populasi (= 11,664).

δ : $\mu_1 - \mu_2$ (perkiraan selisih nilai mean di populasi 1 dengan populasi 2
(39,600 – 59,067 = 19,467).

$$\mu_1 = 39,600$$

$$\mu_2 = 59,067$$

4.2.3 Pengelompokan Unit Eksperimen (randomisasi)

Randomisasi adalah pengaturan unit eksperimen ke dalam kelompok-kelompok secara simple random sampling. Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok dengan jumlah replikasi masing-masing kelompok ada 6 ekor tikus, dan terbagi kelompok kontrol negatif (K-) tidak diberi apapun. Kelompok kontrol positif (K+) di diinokulasi *C albicans* diberi obat anti jamur dengan dosis 0,035 mg/100 g BB tikus. Kelompok perlakuan terdiri dari P1 diinokulasi *C albicans* dengan pemberian ekstrak daun mimba dosis 19 mg/100 g BB tikus, P2 diinokulasi *C albicans* diberi ekstrak daun mimba dosis 57

mg/100 g BB tikus, P3 diinokulasi *C albicans* diberi ekstrak daun mimba dosis 95 mg/100 g BB tikus.

Masing-masing kelompok dilakukan pengamatan sebelum dan sesudah perlakuan yaitu untuk mengetahui jumlah blastospora dan pseudohifa melalui pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue*, jumlah sel makrofag melalui pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa*, untuk menghitung jumlah koloni *C albicans* dengan *colony counter*.

4.3 Variabel Penelitian dan definisi operasional variabel

4.3.1 Variabel penelitian

1. Variabel Bebas (Variabel Independent)

ekstrak daun mimba.

2. Variabel Terikat (Variabel Dependent)

- a. Jumlah blastospora
- b. Jumlah pseudohifa
- c. Jumlah koloni *C albicans*
- d. Jumlah makrofag

3. Variabel Terkendali

- a. Strain tikus
- b. Jenis kelamin tikus
- c. Umur tikus
- d. Berat badan tikus

- e. Pakan dan pemeliharaan tikus
- f. Kesehatan fisik tikus
- g. Sanitasi
- h. Waktu pengambilan sampel
- i. Prosedur penelitian

4.3.2 Definisi Operasional

Ekstrak daun mimba

Ekstrak daun mimba adalah daun mimba yang baru dipetik dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian diekstrak dari zat bioaktifnya sebagai anti jamur dengan menggunakan etanol.

Jumlah Blastospora

Jumlah blastospora adalah jumlah bentuk sel *C albicans* berupa sel-sel tunas berbentuk *budding cell* yang dapat diketahui melalui pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* dalam 5 kali lapang pandang.

Jumlah Pseudohifa

Jumlah pseudohifa adalah jumlah sel *C albicans* bentuk kecambah memanjang seperti sosis yang sangat virulen dapat diketahui melalui pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* dalam 5 kali lapang pandang.

Jumlah koloni *C albicans*

Jumlah koloni *C albicans* adalah jumlah *C albicans* yang tumbuh pada suatu media. Pada penelitian ini dihitung pada media *saburoud's agar* sebagai koloni yang bulat, putih kekuningan, halus dan licin dapat diketahui dengan *colony counter*.

Jumlah sel makrofag

Jumlah sel makrofag adalah jumlah sel makrofag sebagai tanda aktifitas makrofag selain mensekresi sitokin yang dapat dilihat menggunakan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa* dalam 5 kali lapang pandang.

Kandidiasis vaginalis

Kandidiasis vaginalis adalah infeksi jamur pada dinding vagina yang disebabkan oleh genus *candida* tersering *C albicans*.

Swab vagina

Swab vagina adalah tindakan untuk mengambil skret pada dinding vagina dengan menggunakan *cotton bud*.

C albicans

C albicans merupakan salah satu dari *Candida Spp* penyebab tersering infeksi jamur di vagina. Mikroorganisme ini dapat mengalami perubahan bentuk dari blastospora menjadi pseudohifa dan dari saprofit menjadi patogen. Pada media *saburoud's dekstroza* agar berbentuk bulat, putih kekuningan, halus, licin, kadang sedikit berlipat.

Jenis tikus

Jenis tikus adalah *Rattus norvegicus* strain wistar betina dara dan sehat yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Tikus sehat

Tikus sehat adalah ditandai dengan gerakan aktif, bulu tidak kusam, mata bersinar dan nafsu makan baik.

Umur tikus

Umur tikus adalah waktu yang dihitung mulai tikus dilahirkan sampai dilakukan penelitian. Pada penelitian ini umur tikus 4 bulan.

Tikus drop out

Tikus drop out adalah tikus yang sakit/mati selama pemeliharaan.

Dosis

Dosis adalah takaran suspensi ekstrak daun mimba dan anti jamur yang diberikan pada tikus dihitung setelah dikonversi dari dosis manusia ke dosis tikus. Dosis 0,035 mg/100 g BB tikus untuk K+ ; 19 mg/100 g BB tikus untuk P1; 57 mg/100 g BB tikus untuk P2; 95 mg/100 g BB tikus untuk P3. Banyaknya suspensi yang diberikan disesuaikan dengan kapasitas lambung tikus maksimal 2 ml.

Pemeliharaan tikus

Pemeliharaan tikus adalah perawatan yang dilakukan pada kandang tertutup kawat beralas sekam, kapasitas kandang disesuaikan dengan ukuran kandang dan makannya diberikan *pellet ad libitum*.

Berat badan tikus

Berat badan tikus adalah dihitung dengan menggunakan timbangan digital elektrik merk Ohaus dalam satuan gram. Berat badan tikus 200 – 250 gram.

Air minum tikus

Air minum tikus adalah air minum yang diberikan pada tikus berupa aqua dan diberikan secara ad libitum (tanpa batas sesuai dengan kebutuhan tikus).

Waktu perlakuan

Waktu perlakuan adalah waktu pemberian perlakuan selama 21 hari sesuai dengan masing-masing kelompok perlakuan. Pemberian ini diberikan 1 kali sehari setiap jam 08.00 WIB.

Pemberian ekstrak daun mimba

Pemberian ekstrak daun mimba adalah diberikan secara peroral sebanyak 2 ml untuk masing-masing dosis perlakuan setiap jam 08.00 WIB. selama 21 hari.

Pemberian secara per oral

Pemberian secara per oral adalah pemberian ekstrak daun mimba melalui mulut *Rattus norvegicus* dengan menggunakan sonde lambung.

4.4 Bahan penelitian

Hewan coba dalam penelitian ini adalah *Rattus norvegicus* strain wistar betina dara. Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah swab jaringan vagina. Bahan yang digunakan untuk perlakuan pada hewan coba adalah ekstrak daun mimba yang sudah dimaserasi dan dilarutkan dalam bahan CMC Na 0,5% dan obat anti jamur.

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah :

- a. Pakan ternak ACT.
- b. Daun mimba.
- c. *C albicans*.
- d. Cairan PBS.
- e. Bahan pemeriksaan mikroskopis :
 - 1). Biakan *C albicans*
 - 2). Larutan NaCl faali/aquades.
 - 3). Ose.
 - 4). Zat warna LCB (*Lactophenol Cotton Blue*).
 - 5). Zat warna *Giemsa*.

4.5 Instrumen Penelitian

- a. Kandang tikus untuk tempat pemeliharaan tikus.
- b. Botol plastik tempat minum tikus.
- c. Timbangan digital elektrik merk ahaous untuk menimbang berat badan tikus.
- d. Alat untuk perlakuan :
 - a. Disposable syringe ukuran 1 cc.
 - b. Disposable syringe ukuran 10 cc.
 - c. Sonde untuk memasukkan bahan perlakuan.

- e. Alat untuk swab vagina, pemeriksaan mikroskopis dan hitung koloni *C albicans*
 - a. Cotton buds.
 - b. Tabung PBS.
 - c. Mikroskop
 - d. *colony counter*
 - e. *obyek glas*
 - f. *cover glass/penutup glas*

4.6 Lokasi dan waktu penelitian

Lokasi penelitian adalah di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pemeriksaan mikroskopis dan penghitungan jumlah koloni *C albicans* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium *in vitro* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu yang dibutuhkan inokulasi *C albicans* selama 6 hari, swab vagina dan pemeriksaan mikroskopis, penghitungan jumlah koloni *C albicans* dan jumlah sel makrofag selama 12 hari sedangkan perlakuan selama 21 hari (1,5 bulan).

4.7 Prosedur pengambilan data

4.7.1 Penentuan jenis, dosis dan waktu perlakuan

Dosis yang diberikan dihitung setelah dikonversi dari dosis manusia ke dosis tikus (Diah,2004), banyaknya suspensi yang diberikan disesuaikan dengan kapasitas

lambung tikus (maksimal 2 ml). Penentuan satuan miligram dalam suspensi pada dosis perlakuan dilakukan penghitungan terlebih dahulu (lampiran 2).

Dosis ekstrak daun mimba yang diberikan pada masing-masing perlakuan adalah 19 mg/100 g BB tikus untuk P1; 57 mg/100 g BB tikus untuk P2; 95 mg/100 g BB tikus untuk perlakuan 3. Kelompok K+ diberikan obat anti jamur 0.035 mg/100 g BB tikus. Semua hewan coba diberikan perlakuan setiap jam 08.00 WIB selama 21 hari.

4.7.2 Prosedur penelitian

1. Tahap Persiapan

Pembuatan ekstrak daun mimba

Daun mimba diekstrak dengan etanol untuk mendapatkan bahan bioaktif yang mengandung anti fungi, dilakukan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk kering dari daun mimba dimaserasi dengan 10 bagian pelarut etanol 70% dan dikocok selama 2 jam, kemudian diendapkan 24 jam, disaring sehingga diperoleh filtrat ke-1 dan ampas. Ampas dilarutkan kembali dengan pelarut etanol 70%, dilakukan pengocokan lagi selama 2 jam kemudian didiamkan selama 1 jam dan disaring diperoleh filtrat ke-2 dan ampas, lalu filtrat digabung (1 dan 2) dan diuapkan atau dipekatkan dengan rotavapor pada suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak etanol.

Tikus

Tikus yang digunakan sebagai hewan coba adalah *Rattus norvegicus* betina dara diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Sebelum dikelompokan sesuai perlakuan, dilakukan adaptasi selama 1 minggu. Tempat adaptasi adalah kandang hewan coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Tikus yang tidak sehat atau mati dikeluarkan dari penelitian.

C albicans

C albicans adalah stok yang diperoleh dari pasien yang telah diidentifikasi kandidiasis vaginalis karena *C albicans* di Laboratorium Klinik Waluyo Jati Surabaya.

2. Tahap Perlakuan

1. Inokulasi *C albicans*

Inokulasi *C albicans* pada mukosa vagina tikus sebanyak 0,1 cc yang mengandung 1×10^8 *C albicans* dalam PBS dengan cara disemprotkan menggunakan *disposable syringe* dan dilakukan 2 x sehari selama 6 hari sehingga tikus menjadi kandidiasis vaginalis.

2. Pemberian ekstrak daun mimba pada tikus

K- : tidak diberikan apapun.

K+ : diberikan obat anti jamur dengan dosis 0,035 mg/100 BB tikus sebanyak 2 ml per oral perhari selama 21 hari setiap jam 08.00 WIB.

P1 : diberikan suspensi ekstrak daun mimba dengan dosis 19 mg/100 BB tikus sebanyak 2 ml per oral perhari selama 21 hari setiap jam 08.00 WIB.

P2 : diberikan suspensi ekstrak daun mimba dengan dosis 57 mg/100 BB tikus sebanyak 2 ml per oral perhari selama 21 hari setiap jam 08.00 WIB.

P3 : diberikan suspensi ekstrak daun mimba dengan dosis 95 mg/100 BB tikus sebanyak 2 ml per oral perhari selama 21 hari setiap jam 08.00 WIB.

3. Penghitungan jumlah blastospora.

Sebelum perlakuan dan setelah 21 hari perlakuan kelompok K-, K+, P1, P2 dan P3 dilakukan swab vagina dan dihitung jumlah blastospora melalui pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* dalam lima kali lapang pandang.

4. Penghitungan jumlah pseudohifa.

Sebelum perlakuan dan setelah 21 hari perlakuan kelompok K-, K+, P1, P2 dan P3 dilakukan swab vagina dan dihitung jumlah pseudohifa melalui pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* dalam lima kali lapang pandang.

5. Pemeriksaan jumlah sel makrofag

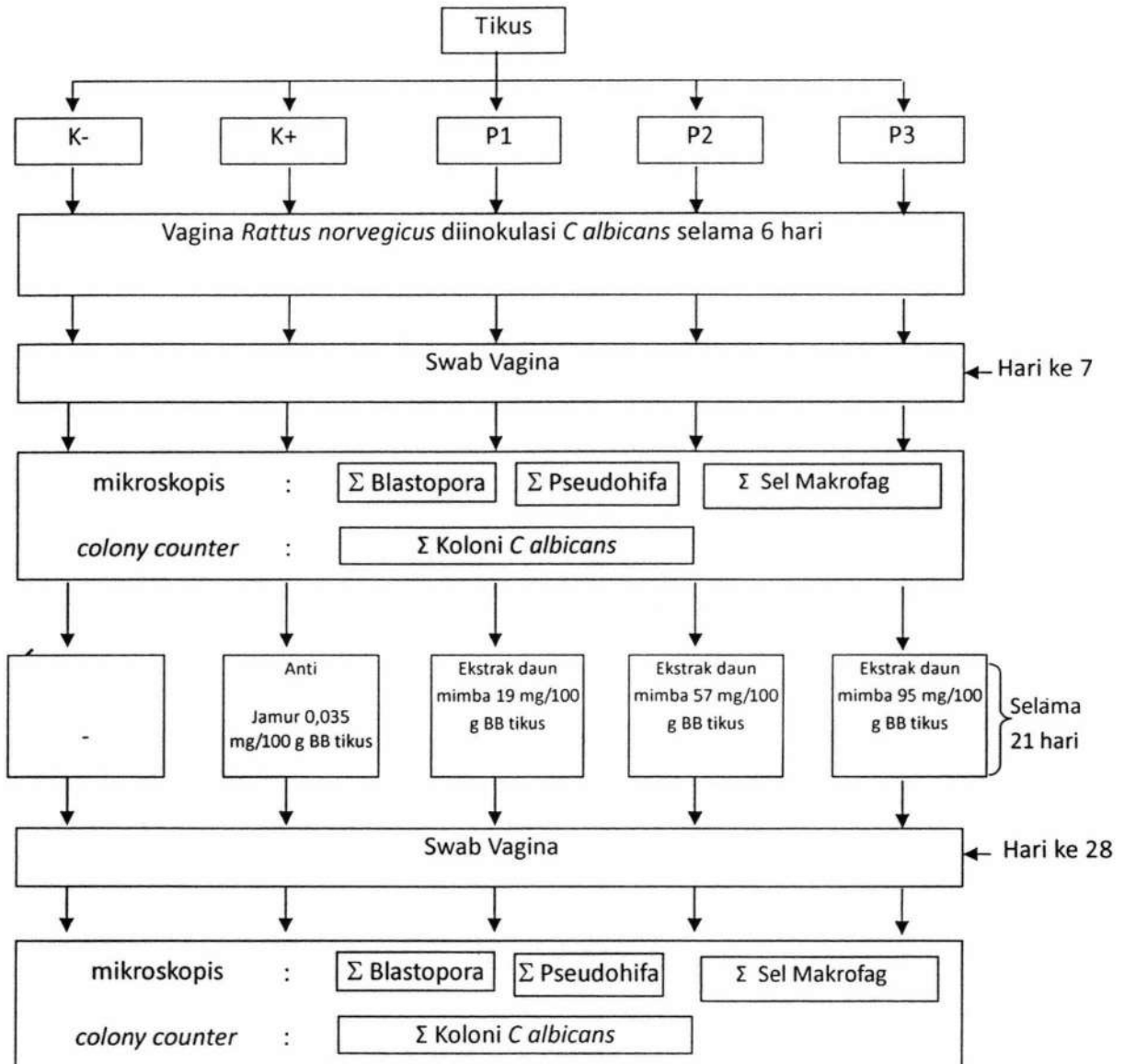
Sebelum perlakuan dan setelah 21 hari perlakuan kelompok K-, K+, P1, P2 dan P3 dilakukan swab vagina dan diperiksa aktifitas makrofag dengan

menghitung sel makrofag menggunakan pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa* dalam satu lapang pandang pembesaran 400x.

6. Penghitungan jumlah koloni *C albicans*.

Sebelum perlakuan dan setelah 21 hari perlakuan kelompok K-, K+, P1, P2 dan P3 dilakukan swab vagina dan ditanam langsung pada saburoud's agar yang telah disediakan. Selanjutnya disimpan pada suhu ruangan selama 48 jam. Penghitungan koloni *C albicans* dengan menggunakan *colony counter*.

4.8 Kerangka Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Kerangka Kerja Penelitian

4.9 Cara pengolahan dan analisis data

Data yang telah diperoleh ditabulasi kemudian dianalisis. Untuk menganalisis perbedaan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag *pre test – post test* menggunakan *Paired t-test* sedangkan untuk menganalisis perbedaan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag antar kelompok perlakuan menggunakan uji *Anova one way* bila signifikan dilanjutkan uji LSD dengan nilai $\alpha = 0,05$. Untuk menganalisis jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag sebelumnya dilakukan uji normalitas data dan homogenitas variansi antar kelompok, jika variansi data tidak homogen untuk menguji perbedaan antar kelompok perlakuan menggunakan uji *Brown Forsythe*.

BAB 5

HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

Penelitian ini dirancang dengan menggunakan 5 kelompok, terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif (K-) tidak dibuat model kandidiasis vaginalis, 1 kelompok kontrol positif (K+) dan 3 kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 dibuat model kandidiasis vaginalis dengan cara inokulasi *C albicans* pada vagina *Rattus norvegicus*. Sebelum dan setelah perlakuan *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis dihitung jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag. Setelah data terkumpul dilakukan uji normalitas, uji homogenitas, *Paired t- test*, uji *Anova one way/Brown Forsythe* dan uji LSD.

Hasil dan analisis penelitian ditampilkan dalam bentuk gambar, foto dan tabel yang disusun sesuai tujuan penelitian, yaitu :

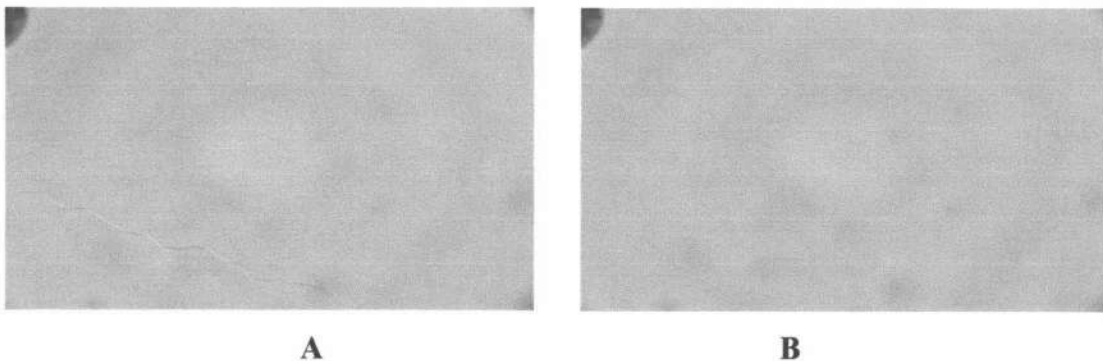
5.1 Data Penelitian

5.1.1 Hasil pemeriksaan mikroskopis jumlah blastospora dan pseudohifa sebelum dan setelah perlakuan.

Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah blastospora dan pseudohifa sebelum dan setelah perlakuan dapat diketahui dari swab vagina kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan LCB (*Lactophenol Cotton Blue*). Tidak ditemukan blastospora dan pseudohifa pada kelompok kontrol negatif (K-), tetapi ada 2 hewan coba ditemukan adanya blastospora dan pseudohifa pada kelompok K- hal ini dimungkinkan terkontaminasi *C albicans* atau faktor lain. Terdapat gambar yang jelas adanya blastospora dan pseudohifa pada kelompok K+, P1, P2 dan P3 menandakan

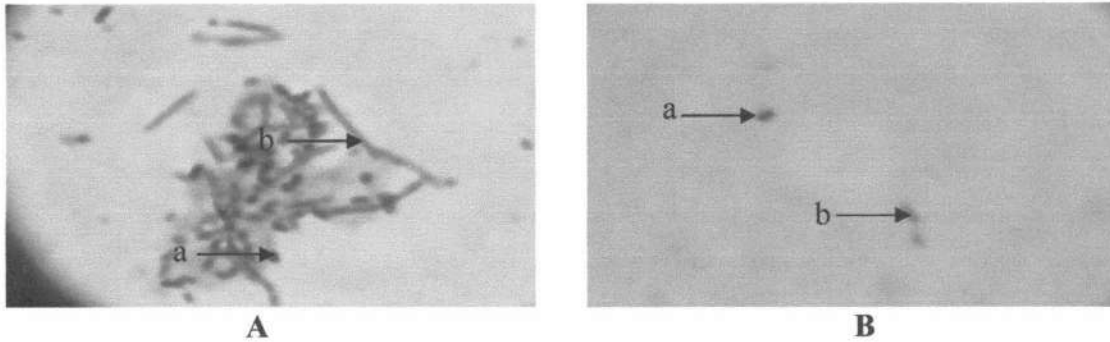
terjadi kandidiasis vaginalis sebelum perlakuan. Pada kelompok kontrol K⁺ dan kelompok P2 menunjukkan jumlah blastospora dan pseudohifa relatif sama. Kelompok P1 ditemukan blastospora dan pseudohifa dengan jumlah lebih banyak dari kelompok kontrol positif (K⁺) maupun kelompok P2. Kelompok P3 tidak ditemukan sama sekali blastospora maupun pseudohifa.

Pada gambar 5.1 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan LCB (*Lactophenol Cotton Blue*) tidak tampak adanya blastospora dan pseudohifa pada K⁻ sebagai kontrol negatif bukan model kandidiasis vaginalis yang tidak diinokulasi *C albicans* dan tidak diberi perlakuan.



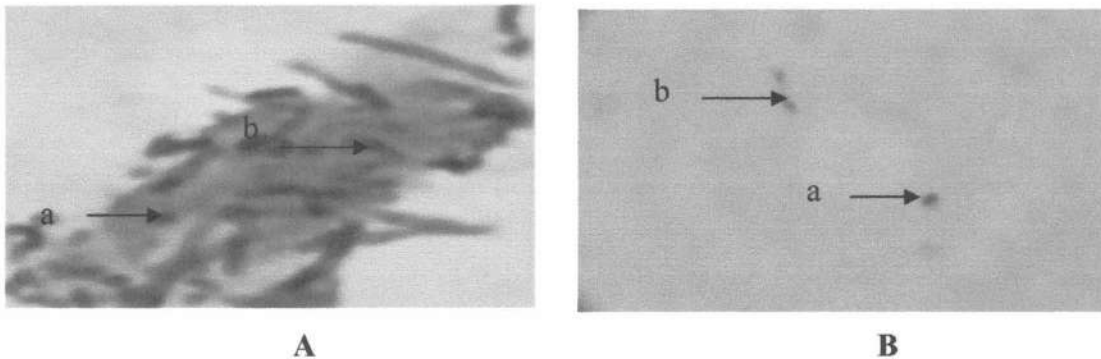
Gambar 5.1 Kelompok kontrol negatif (K⁻) yang tidak diinokulasi *C albicans* (A) dan tidak diberi perlakuan (B)

Pada gambar 5.2 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan LCB (*Lactophenol Cotton Blue*) tampak adanya jumlah blastospora dan pseudohifa yang menurun pada K⁺ sebagai kontrol positif model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah diberi obat anti jamur 0,035 mg /100 g BB.



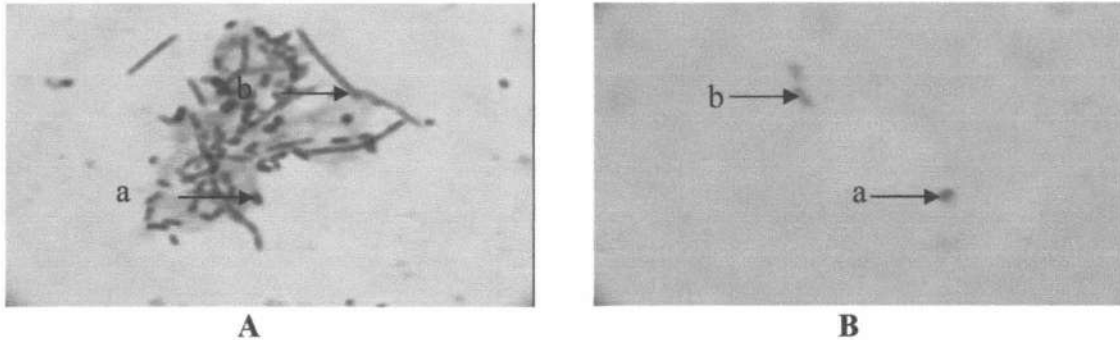
Gambar 5.2 Blastospora (—→ a) dan pseudohifa (—→ b) pada K+ yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan obat anti jamur 0,035 mg/100 g BB

Pada gambar 5.3 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan LCB (*Lactophenol Cotton Blue*) tampak adanya sejumlah blastospora dan pseudohifa yang menurun pada kelompok P1 model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB.



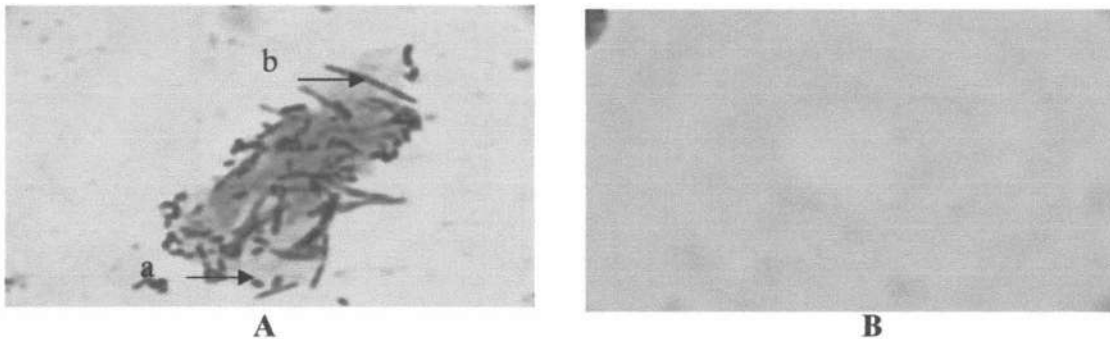
Gambar 5.3 Blastospora (—→ a) dan pseudohifa (—→ b) pada P1 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB

Pada gambar 5.4 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan LCB (*Lactophenol Cotton Blue*) tampak jumlah blastospora dan pseudohifa yang menurun pada kelompok P2 model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB.



Gambar 5.4 Blastospora (—→ a) dan pseudohifa (—→b) P2 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB

Pada gambar 5.5 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan LCB (*Lactophenol Cotton Blue*) tampak tidak didapatkan jumlah blastospora dan pseudohifa pada kelompok P3 model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100g BB.



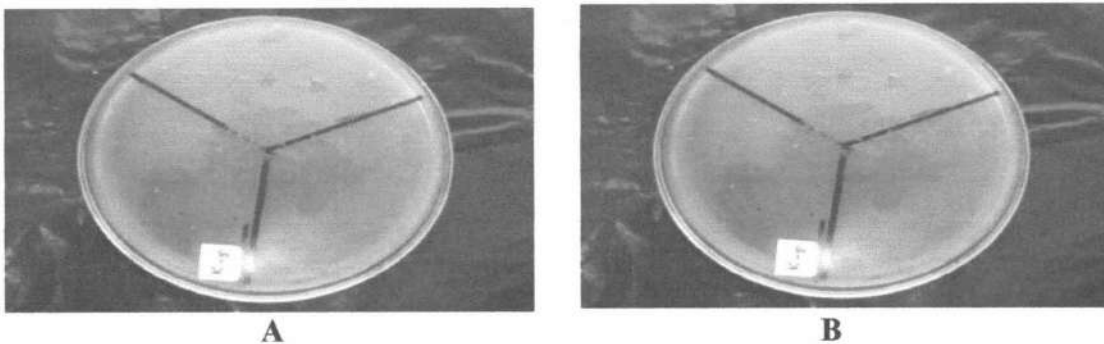
Gambar 5.5 Blastospora (—→ a) dan pseudohifa (—→b) pada P3 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100 g BB

5.1.2 Hasil pemeriksaan koloni *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan.

Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah koloni *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dapat diketahui dengan pemeriksaan kultur *C albicans* yang ditumbuhkan pada sabouroud's agar. Pada K- tidak ditemukan adanya koloni *C albicans* sebelum dan setelah 21 hari, tetapi ada 2 hewan coba ditemukan adanya koloni *C albicans*, hal ini dimungkinkan terkontaminasi *C albicans* atau faktor lain. Pada

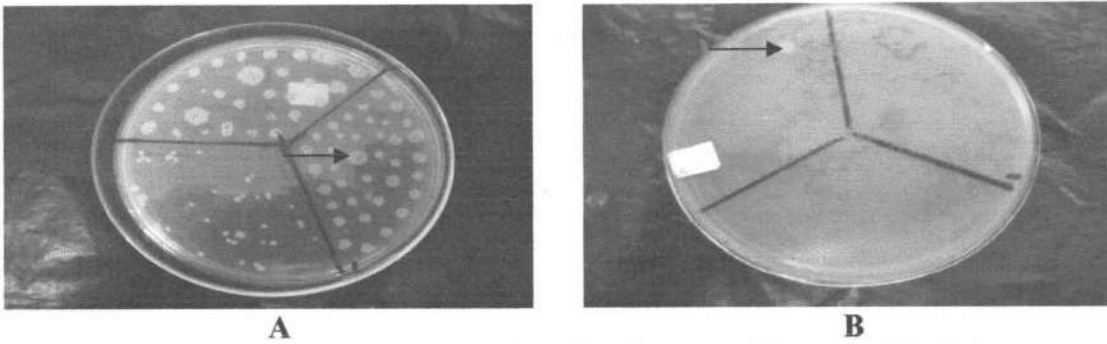
kelompok terinfeksi K+, P1, P2, P3 terdapat koloni *C albicans* yang banyak sebelum perlakuan. Setelah perlakuan pada kelompok K+ dan kelompok P2 menunjukkan jumlah koloni *C albicans* yang sama. Kelompok P1 ditemukan koloni *C albicans* dengan jumlah lebih banyak daripada kelompok K+ dan P2. Kelompok P3 tidak ditemukan sama sekali koloni *C albicans*. Kelompok dengan jumlah koloni *C albicans* terbanyak pada kelompok P1 diikuti P2 dan kelompok perlakuan dengan jumlah koloni *C albicans* terkecil pada kelompok P3.

Pada gambar 5.6 melalui metode pemeriksaan kultur *C albicans* yang ditumbuhkan pada sabouroud's agar tidak tampak adanya koloni *C albicans* pada K- sebagai kontrol negatif bukan model kandidiasis vaginalis yang tidak diinokulasi *C albicans* dan tidak diberi perlakuan.



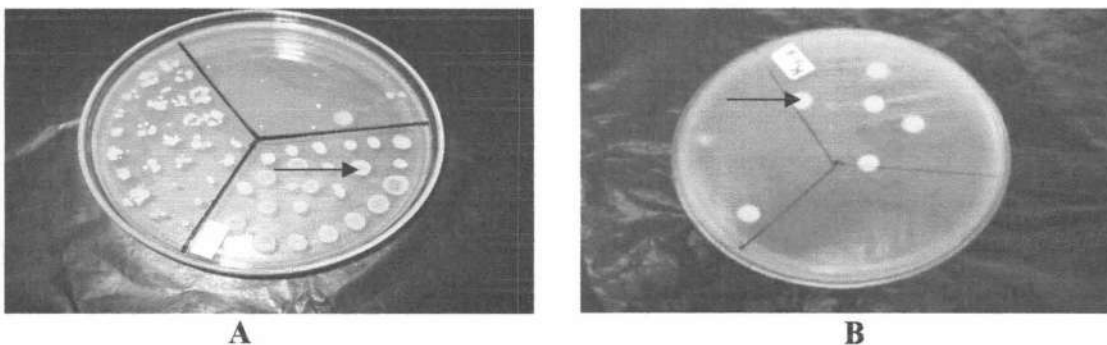
Gambar 5.6 Kelompok kontrol negatif (K-) yang tidak diinokulasi *C albicans* (A) dan tidak diberi perlakuan (B)

Pada gambar 5.7 melalui metode pemeriksaan kultur *C albicans* yang ditumbuhkan pada sabouroud's agar tampak jumlah koloni *C albicans* yang menurun pada K+ sebagai kontrol positif model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah diberi obat anti jamur 0,035 mg/100 g BB.



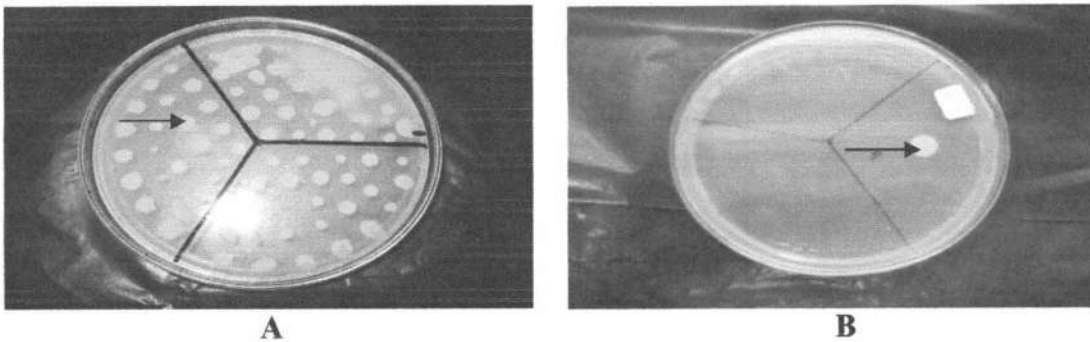
Gambar 5.7 Koloni *C albicans* (—>) pada K+ yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan obat anti jamur 0,035 mg/100 g BB

Pada gambar 5.8 melalui metode pemeriksaan kultur *C albicans* yang ditumbuhkan pada sabouroud's agar tampak jumlah koloni *C albicans* yang menurun pada P1 model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB.



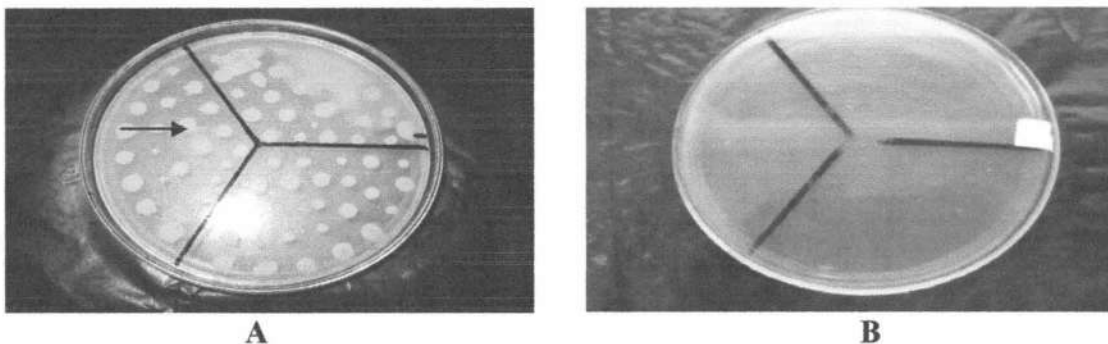
Gambar 5.8 Koloni *C albicans* (—>) pada P1 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB

Pada gambar 5.9 melalui metode pemeriksaan kultur *C albicans* yang ditumbuhkan pada sabouroud's agar tampak jumlah koloni *C albicans* yang menurun pada P1 model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB.



Gambar 5.9 Koloni *C albicans* (—→) pada P2 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB.

Pada gambar 5.10 melalui metode pemeriksaan kultur *C albicans* yang ditumbuhkan pada saburoud's agar tampak tidak ditemukan koloni *C albicans* pada P3 model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100 g BB.



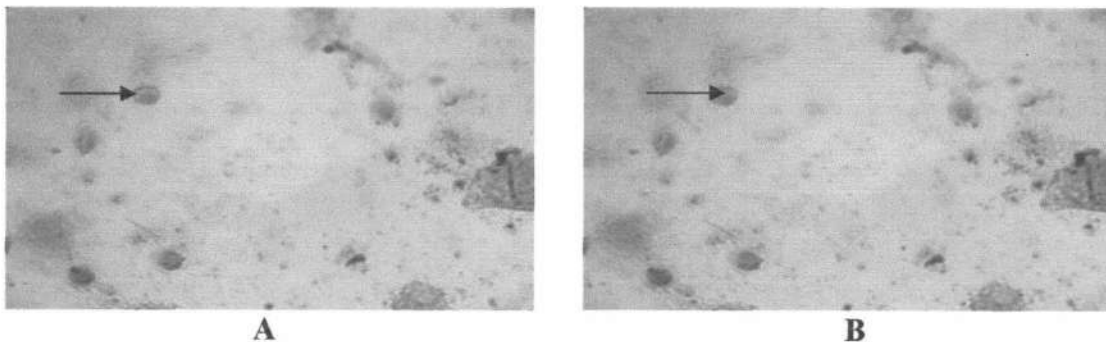
Gambar 5.10 Koloni *C albicans* (—→) pada P3 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100 g BB

5.1.3 Hasil pemeriksaan mikroskopis jumlah sel makrofag sebelum dan setelah perlakuan.

Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap peningkatan sel makrofag sebelum dan setelah perlakuan dapat diketahui melalui pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa*. Sebelum perlakuan pada kelompok K- tidak terinfeksi jamur terdapat jumlah sel

makrofag, sedangkan yang terinfeksi jamur didapatkan jumlah sel makrofag tinggi pada kelompok K+, P1, P2 dan P3. Setelah perlakuan jumlah sel makrofag . Sel makrofag pada kelompok kontrol K-, K+, P1, P2 dan P3 pada mikroskop tampak sebagai sel berinti tunggal bulat berbentuk lonjong/bulat/ginjal. Pada kelompok K- ditemukan jumlah sel makrofag juga meningkat dari sebelumnya. Pada kelompok perlakuan nampak gambaran jumlah sel makrofag cenderung meningkat seiring meningkatnya dosis perlakuan dari ekstrak daun mimba, kelompok P2 lebih banyak dari P1 dan P3 lebih banyak dari P2. Kelompok K+ menunjukkan jumlah sel makrofag paling tinggi

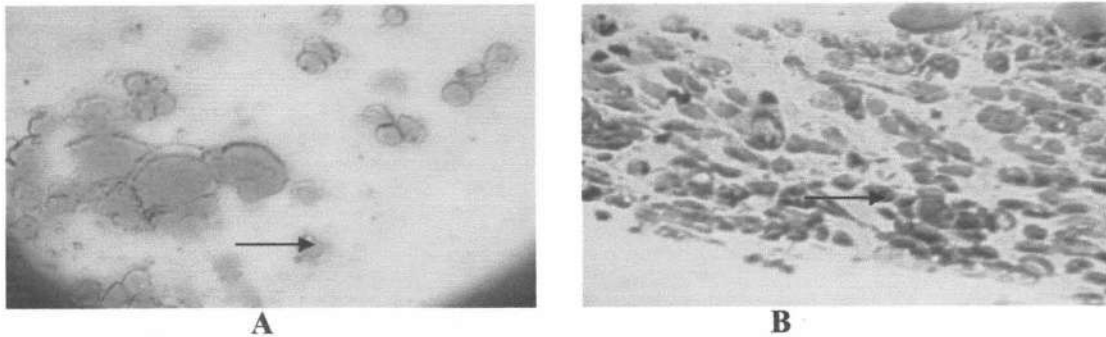
Pada gambar 5.11 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa* tampak sejumlah sel makrofag yang meningkat sedikit pada K- sebagai kontrol negatif bukan model kandidiasis vaginalis yang tidak diinokulasi *C albicans* dan tidak diberi perlakuan.



Gambar 5.11 Sel makrofag (—>) pada K- yang tidak diinokulasi *C albicans* (A) dan tidak diberi perlakuan (B)

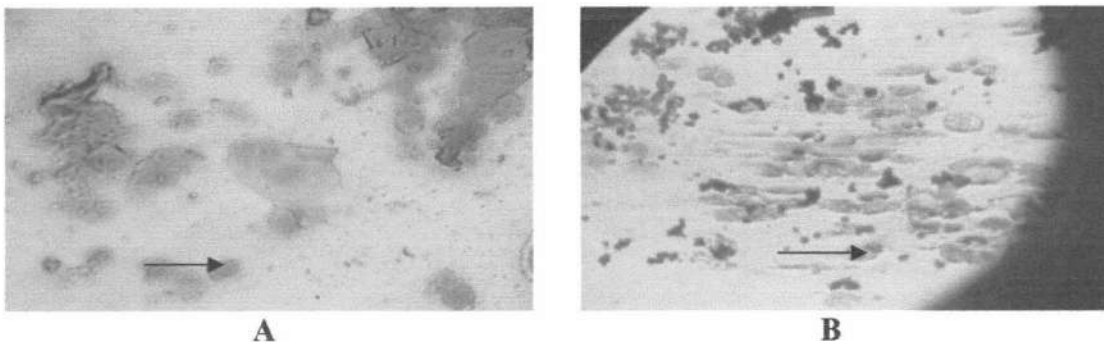
Pada gambar 5.12 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa* tampak jumlah sel makrofag yang meningkat pada K+ sebagai kontrol positif model

kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah diberi obat anti jamur 0,035 mg/100 g BB.



Gambar 5.12 Sel makrofag (—>) pada K+ yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) diberi perlakuan 0,035 mg/100 g BB

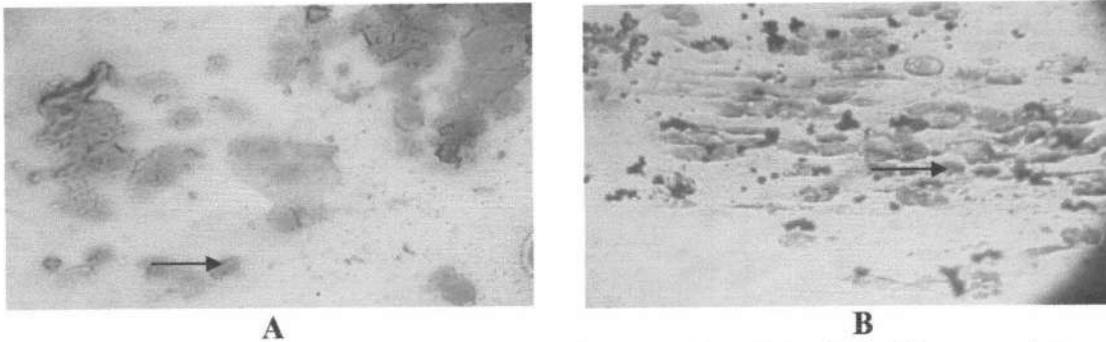
Pada gambar 5.13 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa* tampak jumlah sel makrofag yang meningkat pada P1 model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB.



Gambar 5.13 Sel makrofag (—>) pada P1 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 19 mg/100 g BB

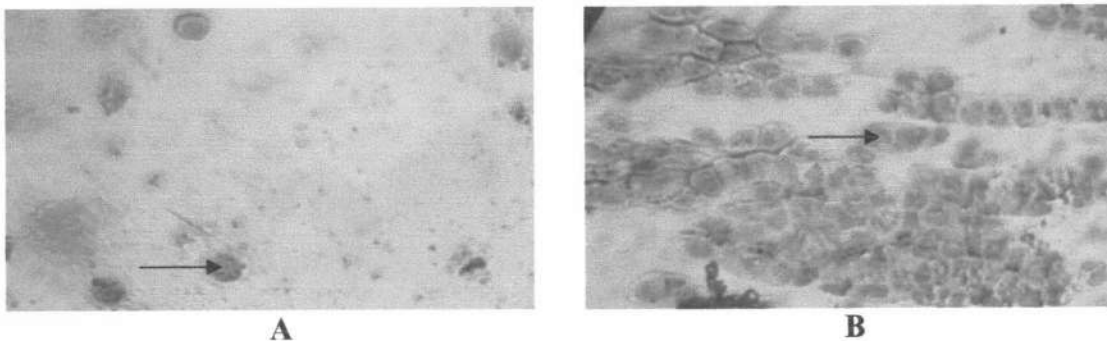
Pada gambar 5.14 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa* tampak jumlah sel makrofag yang meningkat pada P2 model kandidiasis

vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB.



Gambar 5.14 Sel makrofag (—→) pada P2 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 57 mg/100 g BB.

Pada gambar 5.15 melalui metode pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Giemsa* tampak jumlah sel makrofag yang meningkat pada P3 model kandidiasis vaginalis yang diinokulasi *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100 g BB.



Gambar 5.15 Sel makrofag (—→) pada P3 yang diinokulasi *C albicans* sebelum (A) dan setelah (B) perlakuan dengan ekstrak daun mimba 95 mg/100 g BB.

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

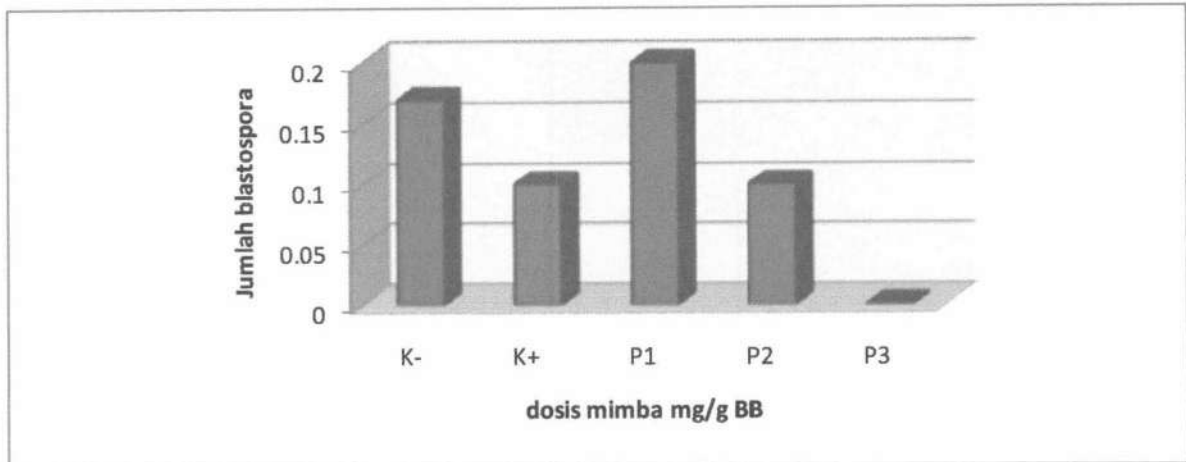
5.2.1 Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah blastospora model kandidiasis vaginalis.

Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah blastospora dapat diketahui melalui hasil analisis sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok yang dijelaskan sebagai berikut :

Tabel 5.1 Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah blastospora model kandidiasis vaginalis.

Kelompok	n	Jumlah blastospora		Paired t Test
		Pre ($\bar{X} \pm SD$)	Post ($\bar{X} \pm SD$)	
K-	6	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,27	p=0,185
K+	6	4,10 ± 1,89	0,10 ± 0,11	p=0,004*
P1	6	4,20 ± 3,52	0,20 ± 0,17	p=0,036*
P2	6	2,67 ± 1,58	0,10 ± 0,10	p=0,012*
P3	6	3,50 ± 0,97	0,00 ± 0,00	p=0,000*
<i>Anova one way</i>		F=4,611 p=0,006*		

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$



Gambar 5.16 Histogram penurunan jumlah blastospora akibat aktifitas ekstrak daun mimba

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah blastospora sebelum perlakuan lebih tinggi dan cenderung menurun setelah perlakuan bahkan memiliki jumlah 0 pada P3 (gambar 5.16). Berdasarkan analisis dengan *Paired t Test* semua kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan yaitu nilai $p < 0,05$ (kelompok K+ $p = 0,004$; P1 $p = 0,036$; P2 $p = 0,012$; P3 $p = 0,000$), kecuali pada kelompok K- diperoleh nilai $p = 0,185$ ($p > 0,05$) maka tidak ada perbedaan jumlah blastospora sebelum dan setelah perlakuan. Sebelum perlakuan jumlah blastospora terendah adalah pada kelompok K- yaitu $0,00 \pm 0,00$ dan jumlah blastospora tertinggi pada kelompok P1 yaitu $4,20 \pm 3,52$. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa jumlah blastospora pada P1 memiliki jumlah blastospora yang paling banyak dibanding kelompok lain. Setelah perlakuan jumlah blastospora terendah adalah pada kelompok P3 yaitu $0,00 \pm 0,00$ dan jumlah blastospora tertinggi pada kelompok P1 yaitu $0,20 \pm 0,40$. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa

jumlah blastospora pada P1 memiliki jumlah blastospora yang paling banyak dibanding kelompok lain. Adapun untuk menguji perubahan jumlah blastospora sebelum dan setelah perlakuan menggunakan uji *Anova one way*. Hasil uji *Anova One Way* didapatkan sebagai berikut :

Tabel 5.2 Perubahan jumlah blastospora sebelum dan setelah perlakuan.

Kelompok	n	Perub. Jml. Blastospora ($\bar{X} \pm SD$)	<i>Anova one way</i>
K-	6	-0,17 ^a ± 0,27	F = 4,741
K+	6	4,00 ^b ± 1,94	p = 0,006*
P1	6	4,00 ^b ± 3,44	
P2	6	2,57 ^b ± 1,65	
P3	6	3,50 ^b ± 0,97	

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$
^{a,b} superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada $\alpha=0,05$

Berdasarkan tabel 5.2 dapat diketahui hasil uji *Anova One Way* $p = 0,006$ ($p < 0,05$) berarti terdapat perbedaan penurunan jumlah blastospora akibat pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis yang berbeda. Dari uji LSD didapatkan bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok K+, P1, P2 dan P3 sedangkan dengan kelompok K-, kelompok-kelompok tersebut menunjukkan adanya perbedaan.

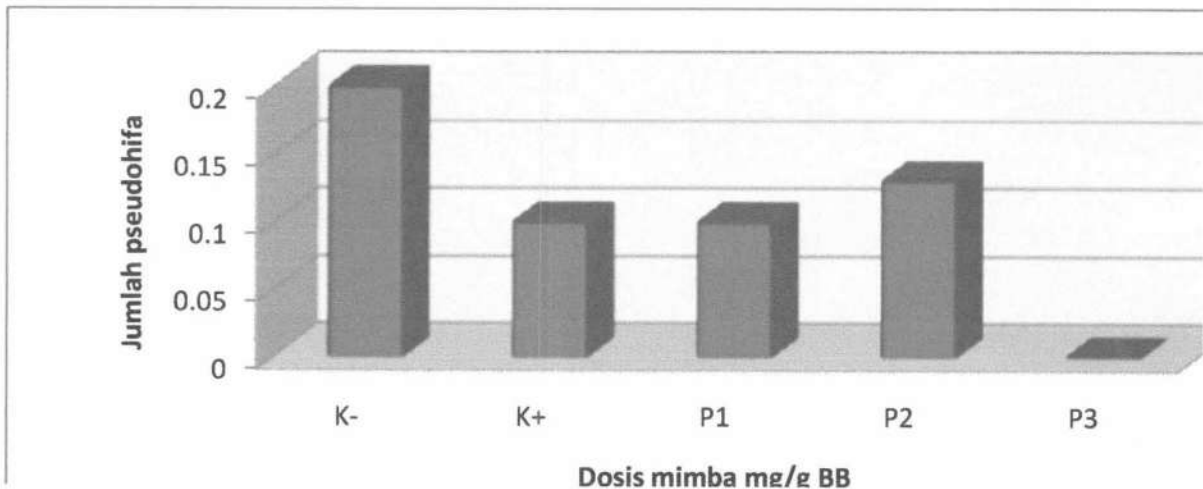
5.2.2 Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan pseudohifa model kandidiasis vaginalis.

Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah pseudohifa dapat diketahui melalui analisis sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok yang dapat dijelaskan sebagai berikut :

Tabel 5.3 Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah pseudohifa model kandidiasis vaginalis.

Kelompok	n	Jumlah pseudohifa		Paired t Test	
		Pre ($\bar{X} \pm SD$)	Post ($\bar{X} \pm SD$)		
K-	6	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,33	p=0,203	
K+	6	3,43 ± 3,04	0,10 ± 0,12	p=0,046*	
P1	6	3,30 ± 3,02	0,10 ± 0,11	p=0,045*	
P2	6	1,97 ± 1,35	0,13 ± 0,16	p=0,025*	
P3	6	2,80 ± 2,09	0,00 ± 0,00	p=0,022*	
<i>Anova one way</i>		F=2,426	p = 0,075	F=0,963	p = 0,445

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$



Gambar 5.17 Histogram penurunan jumlah pseudohifa akibat aktifitas ekstrak daun mimba

Tabel 5.3 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah pseudohifa sebelum perlakuan lebih tinggi dan cenderung menurun setelah perlakuan bahkan memiliki jumlah 0 pada P3 (gambar 5.17). Berdasarkan analisis dengan *Paired t Test* semua kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan yaitu nilai $p < 0,05$ (kelompok K+ $p = 0,046$; P1 $p = 0,045$;

P2 $p = 0,025$; P3 $p = 0,022$), kecuali pada kelompok K- diperoleh nilai $p = 0,203$ ($p > 0,05$) maka tidak ada perbedaan jumlah pseudohifa sebelum dan setelah perlakuan.

Sebelum perlakuan jumlah pseudohifa terendah adalah pada kelompok K- yaitu $0,00 \pm 0,00$ dan jumlah pseudohifa tertinggi pada kelompok K+ yaitu $3,43 \pm 3,04$. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa jumlah pseudohifa pada K+ memiliki jumlah pseudohifa yang paling banyak dibanding kelompok lain. Setelah perlakuan jumlah pseudohifa terendah adalah pada kelompok P3 yaitu $0,00 \pm 0,00$ dan jumlah pseudohifa tertinggi pada kelompok K- yaitu $0,20 \pm 0,33$. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa jumlah pseudohifa pada K- memiliki jumlah pseudohifa yang paling banyak dibanding kelompok lain. Adapun untuk menguji perubahan jumlah pseudohifa sebelum dan setelah perlakuan karena pseudohifa berdistribusi normal dan tidak homogen maka menggunakan uji *Brown Forsythe*. Hasil uji *Brown Forsythe* didapatkan sebagai berikut :

Tabel 5.4 Perubahan jumlah pseudohifa sebelum dan sesudah perlakuan.

Kelompok	n	Perub. Jml. Pseudohifa ($\bar{X} \pm SD$)	<i>Brown Forsythe</i>
K-	6	$-0,20 \pm 0,34$	F = 2,574 p = 0,077
K+	6	$3,33 \pm 3,10$	
P1	6	$3,20 \pm 2,96$	
P2	6	$1,83 \pm 1,42$	
P3	6	$2,80 \pm 2,10$	

Berdasarkan tabel 5.4 dapat diketahui hasil uji *Brown Forsythe* $p = 0,077$ ($p > 0,05$) berarti tidak terdapat perbedaan penurunan jumlah pseudohifa akibat pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis yang berbeda.

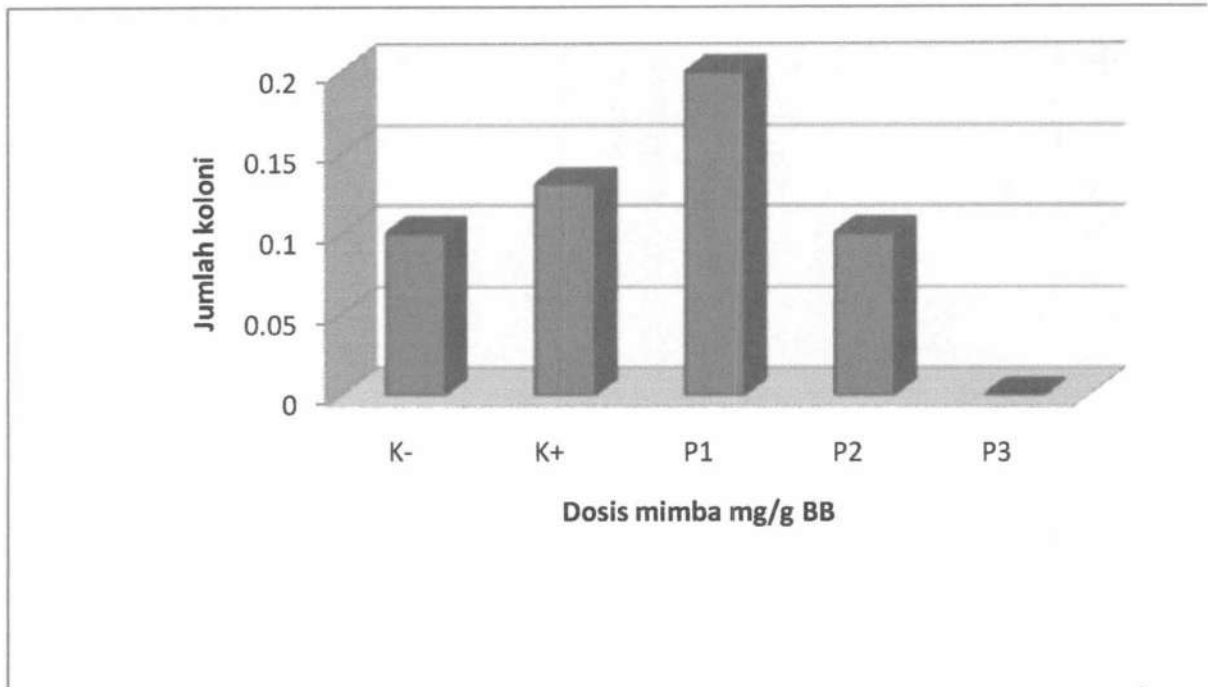
5.2.3 Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah koloni *C albicans* model kandidiasis vaginalis.

Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah koloni *C albicans* dapat diketahui melalui analisis sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok yang dapat dijelaskan sebagai berikut :

Tabel 5.5 Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah koloni *C albicans* model kandidiasis vaginalis.

Kelompok	n	Jumlah koloni <i>C albicans</i>		Paired t Test
		Pre ($\bar{X} \pm SD$)	Post ($\bar{X} \pm SD$)	
K-	6	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,17	p=0,203
K+	6	22,47 ± 8,14	0,13 ± 0,10	p=0,001*
P1	6	30,60 ± 13,34	0,20 ± 0,22	p=0,003*
P2	6	35,90 ± 11,39	0,10 ± 0,11	p=0,001*
P3	6	35,50 ± 9,99	0,00 ± 0,00	p=0,000*
<i>Anova one way</i>		F=14,112 p=0,000*		

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$



Gambar 5.18 Histogram penurunan jumlah koloni *C albicans* akibat aktifitas ekstrak daun mimba

Tabel 5.5 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah koloni *C albicans* sebelum perlakuan lebih tinggi dan cenderung menurun setelah perlakuan bahkan memiliki jumlah 0 pada P3 (gambar 5.18). Berdasarkan analisis dengan *Paired t Test* semua kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan yaitu nilai $p < 0,05$ (kelompok K+ $p = 0,001$; P1 $p = 0,003$; P2 $p = 0,001$; P3 $p = 0,000$), kecuali pada kelompok K- diperoleh nilai $p = 0,203$ ($p > 0,05$) maka tidak ada perbedaan jumlah koloni *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan. Sebelum perlakuan jumlah koloni *C albicans* terendah adalah pada kelompok K- yaitu $0,00 \pm 0,00$ dan jumlah koloni *C albicans* tertinggi pada kelompok P2 yaitu $35,90 \pm 11,39$ sehingga dapat dikatakan bahwa jumlah koloni *C albicans* pada P2 memiliki jumlah koloni *C albicans* yang paling banyak dibanding kelompok lain. Setelah perlakuan jumlah koloni *C albicans* terendah adalah pada kelompok P3 yaitu $0,00 \pm 0,00$ dan

jumlah koloni *C albicans* tertinggi pada kelompok P1 yaitu $0,20 \pm 0,22$. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa jumlah koloni *C albicans* pada P1 memiliki jumlah koloni *C albicans* yang paling banyak dibanding kelompok lain. Adapun untuk menguji perubahan jumlah koloni *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan menggunakan uji *Anova one way* Hasil uji *Anova One Way* didapatkan sebagai berikut :

Tabel 5.6 Perubahan jumlah koloni *C albicans* sebelum dan setelah perlakuan.

Kelompok	n	Perub. Jml. Koloni <i>C albicans</i> ($\bar{X} \pm SD$)	<i>Anova one way</i>
K-	6	$-0,10^a \pm 0,17$	F = 14,111
K+	6	$22,33^b \pm 8,12$	p = 0,000*
P1	6	$30,40^b \pm 13,39$	
P2	6	$35,80^c \pm 11,37$	
P3	6	$35,50^c \pm 9,99$	

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$

^{a,b} superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada $\alpha=0,05$

Berdasarkan tabel 5.6 dapat diketahui hasil uji *Anova One Way* $p = 0,000$ ($p < 0,05$) berarti terdapat perbedaan penurunan jumlah koloni *C albicans* akibat pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis yang berbeda. Dari uji LSD didapatkan bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok K+, P1, P2 dan P3 sedangkan dengan kelompok K- kelompok-kelompok tersebut menunjukkan adanya perbedaan.

5.2.4 Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap peningkatan jumlah sel makrofag model kandidiasis.

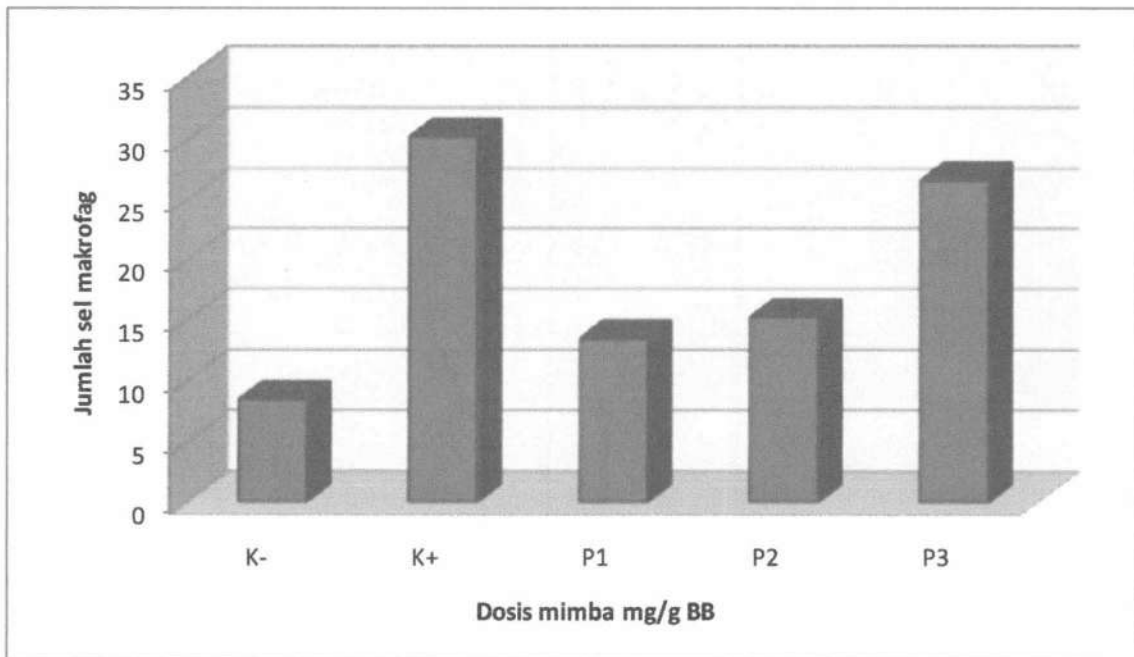
Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap peningkatan jumlah sel makrofag dapat diketahui melalui analisis sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok yang dapat dijelaskan sebagai berikut :

Tabel 5.7 Aktifitas ekstrak daun mimba terhadap peningkatan jumlah sel makrofag model kandidiasis vaginalis.

Kelompok	n	Jumlah sel makrofag		Paired t Test
		Pre ($\bar{X} \pm SD$)	Post ($\bar{X} \pm SD$)	
K-	6	6,13 ± 1,12	8,43 ± 1,70	p=0,072
K+	6	5,20 ± 0,88	30,20 ± 8,79	p=0,001*
P1	6	5,23 ± 0,85	13,47 ± 1,59	p=0,000*
P2	6	4,67 ± 0,39	15,20 ± 2,07	p=0,000*
P3	6	3,90 ± 1,12	26,63 ± 3,72	p=0,000*

Anova one way F=4,833 p = 0,005*

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$



Gambar 5.19 Histogram peningkatan jumlah sel makrofag akibat aktifitas ekstrak daun mimba

Tabel 5.7 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel makrofag sebelum perlakuan lebih tinggi dan cenderung meningkat pada setelah perlakuan bahkan memiliki jumlah terbanyak pada P3 dari kelompok perlakuan P1 dan P2, sedangkan K+ memiliki jumlah sel makrofag terbanyak dibanding semua kelompok (gambar 5.19). Berdasarkan analisis dengan *Paired t Test* semua kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan yaitu nilai $p < 0,05$ (kelompok K+ $p = 0,001$; P1 $p = 0,000$; P2 $p = 0,000$; P3 $p = 0,000$), kecuali pada kelompok K- diperoleh nilai $p = 0,072$ ($p > 0,05$) maka tidak ada perbedaan jumlah sel makrofag sebelum dan setelah perlakuan.

Sebelum perlakuan jumlah sel makrofag terendah adalah pada kelompok P3 yaitu $3,90 \pm 1,12$ dan jumlah sel makrofag tertinggi pada kelompok K- yaitu $6,13 \pm 1,12$. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa jumlah pada K- jumlah sel makrofag yang paling banyak dibanding kelompok lain. Setelah perlakuan jumlah sel makrofag terendah adalah pada kelompok K- yaitu $8,43 \pm 1,70$ dan jumlah sel makrofag tertinggi pada kelompok K+ yaitu $30,20 \pm 8,79$ sehingga dapat dikatakan bahwa jumlah sel makrofag pada K+ memiliki jumlah sel makrofag yang paling banyak dibanding kelompok lain. Tetapi pada kelompok perlakuan jumlah sel makrofag tertinggi pada kelompok P3. Adapun untuk menguji perubahan jumlah sel makrofag sebelum dan setelah perlakuan karena berdistribusi normal dan tidak homogen maka menggunakan uji *Brown Forsythe*. Hasil uji *Brown Forsythe* didapatkan sebagai berikut :

Tabel 5.8 Perubahan jumlah sel makrofag sebelum dan setelah perlakuan.

Kelompok	n	Perub. Jml. Sel makrofag ($\bar{X} \pm SD$)	<i>Brown Forsythe</i>
K-	6	-2,30 ^a ± 2,48	F = 26,050
K+	6	-25,00 ^c ± 9,10	p = 0,000*
P1	6	-8,23 ^b ± 0,87	
P2	6	-10,53 ^b ± 2,36	
P3	6	-22,73 ^c ± 3,72	

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$

^{a,b,c} superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada $\alpha=0,05$

Berdasarkan tabel 5.8 dapat diketahui hasil uji *Brown Forsythe* $p = 0,000$ ($p < 0,05$) berarti terdapat perbedaan peningkatan jumlah sel makrofag akibat pemberian ekstrak daun mimba dengan dosis yang berbeda. Dari uji LSD didapatkan ada perbedaan K- dengan P2 dan P3, K+ dengan P3 dan P1 dengan P3.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan aktifitas ekstrak daun mimba terhadap penurunan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan peningkatan jumlah sel makrofag pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis pada vagina yang diinokulasi *C albicans*. Pengamatan dilakukan sebelum dan sesudah pemberian ekstrak daun mimba.

Ekstrak daun mimba terbukti dapat menurunkan jumlah blastospora pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis. Hal ini ditunjukkan dengan jumlah blastospora sebelum perlakuan lebih tinggi dan menurun setelah perlakuan dengan semakin tingginya dosis ekstrak daun mimba dimana dosis 95 mg/ g BB menunjukkan jumlah blastospora paling sedikit serta terdapat perbedaan jumlah blastospora antar perlakuan dengan dosis yang berbeda.

Ekstrak daun mimba terbukti dapat menurunkan jumlah pseudohifa pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis. Hal ini ditunjukkan dengan jumlah pseudohifa sebelum perlakuan lebih tinggi dan menurun setelah perlakuan dengan ekstrak daun mimba dimana dosis 95 mg/ g BB menunjukkan jumlah pseudohifa paling sedikit, tetapi antar perlakuan tidak terdapat perbedaan jumlah pseudohifa dengan dosis yang berbeda.

Ekstrak daun mimba terbukti dapat menurunkan jumlah koloni *C albicans* pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis. Hal ini ditunjukkan dengan

jumlah koloni *C albicans* sebelum perlakuan lebih tinggi dan menurun setelah perlakuan dengan semakin tingginya dosis ekstrak daun mimba dimana dosis 95 mg/ g BB menunjukkan jumlah koloni *C albicans* paling sedikit serta terdapat perbedaan jumlah koloni *C albicans* antar perlakuan dengan dosis yang berbeda.

Ekstrak daun mimba terbukti dapat meningkatkan jumlah sel makrofag pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis. Hal ini ditunjukkan dengan jumlah sel makrofag sebelum perlakuan lebih rendah dan cenderung meningkat dengan semakin tingginya dosis ekstrak daun mimba dimana dosis 95 mg/ g BB (P3) didapatkan jumlah sel makrofag terbanyak pada kelompok perlakuan. Sedangkan kelompok K+ didapatkan jumlah sel makrofag lebih tinggi daripada P3. Terdapat perbedaan peningkatan jumlah sel makrofag antar perlakuan dengan dosis yang berbeda dengan semakin meningkatnya dosis perlakuan ekstrak daun mimba.

Penurunan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* diduga pada daun mimba mengandung komponen anti jamur *nimbin*, *nimbidin*, *cyclic trisulphide* dan *cyclic tetrasulphide* serta kandungan imunomodulator (*Galic acid*, *epicatechin*, *catechin*). Hal ini sesuai yang dikemukakan pada hasil penelitian Dewanti (2007), bahwa penurunan jumlah koloni *C albicans* dapat melalui dua jalur, yaitu pembunuhan secara langsung dan efek imunomodulator. Pembunuhan secara langsung dapat terjadi karena kandungan anti jamur (*nimbin* dan *nimbidin*) dapat merusak membran sel jamur dengan merubah permeabilitas membran sel, yang kemudian terbentuk pori-pori. akibatnya membran sel menjadi bocor mengakibatkan kematian sel jamur. Selain itu kandungan sulfur pada daun mimba diduga dapat

berkompetisi dengan oksigen pada sel jamur, sehingga menyebabkan terjadinya toksisitas pada jamur dan menyebabkan kematian jamur.

Kandungan imunomodulator dapat meningkatkan respons imun terhadap *C albicans* dengan memodulasi PMN, makrofag dan limfosit sehingga mempengaruhi aktifitas fagositosis dan terjadilah pembunuhan besar terhadap *C albicans*. Bila *C albicans* mati akan mengakibatkan jumlah blastospora, pseudohifa dan koloni *C albicans* menurun bahkan tidak ada sama sekali.

Peningkatan jumlah sel makrofag diduga karena kandungan imunomodulator *Galic acid*, *epicatechin* dan *catechin* yang terdapat dalam daun mimba yang dapat meningkatkan respons imun terhadap *C albicans*. Imunitas terhadap *Candida* ditentukan oleh keberhasilan sel limfosit T dan makrofag dalam menghancurkan sel *Candida*. *Innate immunity* (imunitas alami) merupakan respon imun terdepan terutama makrofag yang paling potensial melawan *C albicans*. Pertahanan tubuh melawan *C albicans* tergantung pada banyaknya ingesti dan eliminasi *C albicans* oleh teraktivasinya sel imun dalam reaksi imun cepat terutama neutrofil, makrofag dan monosit. Sel imun teraktivasi melepaskan mediator pro inflamasi $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$ dan $INF\gamma$ selanjutnya memfagositosis jamur dan melepaskan oksigen dan nitrogen radikal beracun bagi sel jamur sehingga mengeliminasi jamur patogen tersebut. Stimulasi produksi sitokin pro inflamasi dan aktivasi reaksi cepat sistem imun tergantung pada ketepatan dalam mengenali jamur patogen terhadap struktur mikroorganisme sederhana "*Pathogen-associated Molecular Pattern* (PAMPs)". TLR2 merupakan salah satu reseptor *Pathogen*

Recognition Receptor (PRRs) paling penting dalam mengenali *C albicans* dengan cara pengenalan β -glucan untuk memicu produksi sitokin (Netea, *et al.*, 2006).

Mimba merupakan obat alam dan termasuk obat nabati yang dapat mempengaruhi mekanisme pertahanan atau sistem imunitas tubuh (imunomodulator) terutama tertuju pada sistem imunitas tubuh yang tidak spesifik menyangkut sistem komplemen dan sel fagositik. Sistem komplemen dan sel fagosit inilah yang bertanggung jawab atas upaya eliminasi mikroba yang berhasil menembus sistem pertahanan tubuh (Margono, 1996). Makrofag merupakan sel fagosit yang akan mengenali mikroba dan memproduksi sitokin yaitu TNF dan IL-1 yang bekerja pada endotel pembuluh darah kecil di tempat infeksi. Sel makrofag akan menjadi aktif atas pengaruh sitokin sehingga selnya lebih besar, membran plasmanya berlipat-lipat banyak pseudopodia serta mempunyai kesanggupan membunuh mikroorganisme. Sel makrofag yang teraktifkan berperan membunuh mikroba dan melepaskan sitokin TNF, IL-1 dan khemokin yang akan merangsang penimbunan sel netrofil, monosit dan limfosit T di daerah infeksi. Sel makrofag juga melepaskan sitokin lain PDGF (*platelet-derived growth factor*) yang merangsang pertumbuhan dan aktifitas fibroblast serta sel endotel untuk memperbaiki jaringan setelah infeksi bersih. Aktivasi sel makrofag juga meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas II dan stimulator akan memperkuat penyajian antigen sehingga meningkatkan aktivasi limfosit T dan melipatgandakan reaksi imun selular disertai penambahan jumlah sel makrofag untuk membantu membersihkan infeksi secara cepat (Subowo, 2009). Jadi

dengan adanya penambahan jumlah sel makrofag maka *C albicans* bisa tereliminasi dengan cepat.

Pada kelompok K- ditemukan adanya gambaran blastospora, pseudohifa dan koloni *C albicans*, hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor bisa karena mediumnya ataupun terkontaminasi *C albicans*. Sebenarnya unit eksperimen hewan coba *Rattus norvegicus* sudah diupayakan terhindar dari kontaminasi sebelum penelitian maupun saat penelitian agar bebas hama (steril) yang meliputi makanan, alas sekam, kandang dan lingkungannya, namun demikian kontaminasi masih dapat terjadi tetapi tidak semua *Rattus norvegicus* pada kelompok K- terkontaminasi hanya 2 ekor dari 6 ekor. Kelompok K- didapatkan jumlah sel makrofag yang meningkat hal ini dimungkinkan karena kelompok K- terinfeksi dengan *C albicans*. Selanjutnya tubuh dalam menghadapi invasi *Candida* akan mengerahkan sel fagosit (makrofag) untuk mengeliminasinya (Anonimus, 2008).

Jumlah pseudohifa antar perlakuan P1, P2 dan P3 tidak terdapat perbedaan penurunan jumlah pseudohifa dengan dosis berbeda, jumlah pseudohifa P2 lebih banyak daripada P1. Hal ini dimungkinkan karena masing-masing unit eksperimen hewan coba mempunyai derajat keparahan yang berbeda sehingga efek imunomodulator daun mimba tidak cukup untuk meningkatkan respon imun walaupun dosis yang diberikan lebih besar sehingga kandungan anti jamur tidak mampu mematikan sel *Candida*. Selain itu dalam keadaan patogen *C albicans* lebih banyak ditemukan dalam bentuk pseudohifa daripada blastospora. Pseudohifa lebih

virulen dan invasif daripada blastospora, karena pseudohifa berukuran lebih besar sehingga lebih sulit difagositosis oleh makrofag.

Pada kelompok K+ penurunan jumlah blastospora, pseudohifa dan koloni *C albicans* disebabkan karena Flukonazol merupakan anti mikotik yang cukup handal dengan mekanisme kerjanya menghambat sintesis ergosterol (komponen esensial membran sel jamur). Bila komponen ini hilang akan meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga sel rusak dan mengakibatkan kematian sel jamur (Anonimus, 2008; Sylvia, 2008). Flukonazol merupakan inhibitor *cytochrome P-450 sterol C-14 alpha-demethylation* (biosintesis ergosterol) jamur yang sangat selektif. Pengurangan ergosterol yang merupakan sterol utama yang terdapat di dalam membran sel-sel jamur, dan akumulasi sterol-sterol yang mengalami metilase menyebabkan terjadinya perubahan sejumlah fungsi sel yang berhubungan dengan membran (Valentina *et.al.*, 2009). Flukonazol yang diberikan secara oral mengakibatkan terjadinya absorpsi obat secara cepat dan hampir sempurna, konsentrasi fungisidanya juga meningkat dalam vagina dapat menghilangkan gejala dan kultur negatif pada 80 – 90% penderita yang mendapat pengobatan (Murtiastutik, 2008).

Kelompok K+ didapatkan jumlah sel makrofag lebih tinggi dibanding dengan kelompok perlakuan bahkan kelompok P3. Hal ini dimungkinkan karena Flukonazol sudah teruji sebagai anti mikotik paling handal dalam mengatasi kandidiasis vaginalis. Flukonazol merupakan obat anti jamur untuk mengatasi kandidiasis genital (khususnya kandidiasis di vagina) yang direkomendasikan oleh WHO (World Health Organization) dan CDC (United States Department of Health

and Human Services – Centers for Disease Control and Prevention) (WHO, 2003 dan CDC, 2006). Seiring dengan kematian sel jamur respon imun juga meningkat. Selanjutnya anti mikroba (anti jamur) bekerja secara optimal bila tubuh memiliki respon imun yang baik terhadap mikroba (*C albicans*) untuk melawannya.

Penurunan jumlah blastospora tidak diiringi dengan penurunan jumlah pseudohifa maupun koloni *C albicans*. Hal ini dikarenakan cara pemeriksaan blastospora dan pseudohifa berbeda dengan pemeriksaan untuk mengetahui adanya koloni *C albicans*. Untuk mendiagnosis kandidiasis vaginalis dapat digunakan salah satu dari pemeriksaan mikroskopis atau biakan (kultur). Pada pemeriksaan mikroskopis dapat dijumpai Candida bentuk blastospora berupa sel-sel tunas berbentuk *germ tubes* atau *budding cell* dan pseudohifa sebagai sel-sel memanjang seperti sosis yang tersusun memanjang. *C albicans* yang patogen penting menunjukkan adanya pseudohifa yang banyak dan mudah dideteksi dari sekret vagina dengan pewarnaan gram. Bentuk blastospora merupakan bentuk yang berhubungan dengan kolonisasi yang asimptomatik dan tidak ditemukan pseudohifa. Jadi bila pada pemeriksaan mikroskopis didapatkan hanya satu pseudohifa sudah dinyatakan kandidiasis vaginalis. Begitu juga adanya koloni *C albicans* pada pemeriksaan biakan (kultur) sudah dinyatakan kandidiasis vaginalis. Pemeriksaan koloni *C albicans* dilakukan dengan pemeriksaan biakan (kultur). Biakan jamur mempunyai nilai sensitivitas yang tinggi sampai 90%. Koloni *C albicans* berwarna putih kekuningan, ditengah dan dasarnya warnanya lebih tua, permukaannya halus mengkilat dan sedikit menonjol.

Penelitian ini mempunyai keterbatasan yaitu penelitian hanya memanfaatkan aktifitas ekstrak daun mimba sebagai anti jamur dan imunomodulator tanpa memperhatikan kemungkinan adanya perubahan fisiologik, juga tidak mempertimbangkan timbulnya efek samping atau efek terapi yang lain akibat konsumsi ekstrak daun mimba.

Penelitian ini merupakan penelitian pra klinis pada hewan coba yang mempunyai nilai positif dan diharapkan pemanfaatan hasil penelitian ini dapat diaplikasikan pada manusia yang didahului dengan melalui uji klinis dan didukung oleh pemeriksaan laboratorium yang lain.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Simpulan

1. Ekstrak daun mimba dapat menurunkan jumlah blastospora pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis.
2. Ekstrak daun mimba dapat menurunkan jumlah pseudohifa pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis.
3. Ekstrak daun mimba dapat menurunkan jumlah koloni *C albicans* pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis.
4. Ekstrak daun mimba dapat meningkatkan jumlah sel makrofag pada *Rattus norvegicus* model kandidiasis vaginalis.

7.2 Saran

Untuk mendapatkan hasil yang optimal tentang aktifitas ekstrak daun mimba terhadap pengobatan jamur pada vagina (kandidiasis vaginalis), maka saran yang diberikan adalah :

1. Melakukan penelitian senyawa anti jamur pada daun mimba dengan menggunakan ekstrak etanol.
2. Melakukan penelitian pada hewan coba dengan dosis dan waktu pengambilan sampel yang lebih bervariasi.

3. Penelitian lebih lanjut tentang daun mimba sebagai obat yang bersifat imunomodulator yang mempengaruhi respon imun.
4. Melakukan uji toksisitas/efek samping dan uji lapangan penggunaan ekstrak daun mimba perlu dilakukan untuk percepatan aplikasi pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimora A.A., H. Hamilton, K.K. Holmes dan P.F. Sparling, 1994. *Vulvovaginal Candidiasis*. In: Sexually Transmitted Diseases Companion Handbook 2nd ed. New York : Mc. Graw Hill Inc, pp 223 – 332
- Andrean SE, S.F. Chrsiye, Dhedy, 2007. Immunopatofisiologi Kandidiasis pada Pasien Immunokompromais. <http://ilmukedokteran.blogspot.com/2007/11/immunopatofisiologi-candidiasis-pada.html>. 27 Februari 2009.
- Anonimus, 2008. *Candida albicans*. <http://mikrobia.files.wordpress.com>. 17 Nopember 2008.
- Barakbah J, 1992. Candida Vulvovaginitis Ditinjau Dari Penyakit Kulit dan Kelamin. Dalam : *Berkala ilmu penyakit kulit dan kelamin*. Surabaya : FK Unair 4, hlm 165 – 171
- Biswas K., C. Ishita, K.B. Ranajit dan Uday Bdanyopadhyay. 2002. Biological activities dan medical properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*. 82 (11) : 1336-1340
- Brown dan Chin, 2002. Infectious Disease. in (Dipiro, J. T., Talbert, L.R., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, LM., eds). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. 5th Edition. Appleton & Lange. Stamford, pp 1997 – 1999
- Casey Sclar D, 1994. Neem : Mode of Action of Compounds Present in Extract dan formulation of *Azadirachta indica* Seeds dan Their Efficacy to Pest of Ornamental Plants dan to Non-Target Species. Colorado State University. Fort Collins. Colorado 80523
- Chiu, S.F., 1998. *Recent advances in research on botanical insecticides in China*. Guangzhou: South China Agricultural University, pp 69 – 77
- Curry S.L, D.L. Barday, 1994. *Benign Disorders of The Vulva & Vagina*. In (De Cherney A.H., M.L. Pernoll, eds). *Current obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment Connecticut*. California : Appleton & Lange Norwalk, pp 689 – 700

- Denning DW, 1995. Fornightly Review Management of Genital Candidiasis. *BMJ*, pp 1241 – 1244
- Dewanti Ratna, 2003. Daya hambat pertumbuhan *C albicans* oleh Perasan Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss), Majalah Kedokteran Gigi. *Dental Journal*, Edisi khusus Temu Ilmiah Nasional III 6-9 Agustus, hlm 342-344.
- Dewanti Ratna, 2007. Efek perasan daun mimba (*Azadirachta Indica* Juss) terhadap modulasi respon makrofag pada tikus wistar yang diinokulasi *Candida albicans*. *Disertasi*, Universitas Airlangga Surabaya.
- Diah K, 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press, hlm 8 - 99
- Diamond Richard D, A. Caron, Lyman dan R. Deborah Wysong, 1991. Disparate Effects of Interferon γ dan Tumor Necrosis Factor α on Early Neutrophil Respiratory Burst dan Fungicidal Responses to *Candida albicans* Hyphae in Vitro. *J. Clin. Invest* : 87 : 711-720
- Dian S. dan M. Wien Winarno, 2001. Informasi Tumbuhan Obat Sebagai Anti Jamur. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 130, hlm 29-30
- Elias J.A., M.R. Michael dan A.P. Michael, 2003. *Clinical Mycology*. USA. Elsevier Science. pp 199 – 206, 496 – 499
- Eliana dan Ratna, 2005. Penurunan Jumlah Sel Radang pada tikus yang diberi konsumsi Perasan Daun Mimba (*Azadirachta Indica* juss) dan diinokulasi *C albicans*.
- Felix, 2007. Kandidiasis vulvogina. *Racikan Utama-Vol.7 No.1*. <http://www.majalah-farmacia.com>. 17 Nopember 2008.
- Ganguli S. 2002. Neem : A therapeutic for all seasons. *Current Science*. Jun;82 : 11
- Goel R.K. dan K. Sairam. 2002. Anti Ulcer Drugs From Indigenous Source with Emphasis on *Musa Sapientum*, *Tamrabhasma*, *Asparagus Racemosus* dan *Zingiber Officinale*. *Indian J of Pharmacology*. 34 : 100 – 110
- Hay RJ, S.O.B. Robert dan D.W.R. Mackenzie, 1992. *Mycology*. In : Rook/Wilkinson/Ebling eds. *Textbook of dermatology* 5th ed. London : Blackwell Scientific Publication, pp 1180 – 1186

- Horowitz BJ. dan D.Gianquita. 1992. Pathogen in Vulvovaginal Candidiasis Implication for Patient Care. *J.Clin Pharmacol*, pp 248 – 255
- Kadowaki, Norimitsu, Stephen Ho, Svetlana Antonenko, Rene de Waal Malefyt, A. Robert Kastelein, Ferndano Bazan dan Yong-Jun Liu, 2001. Subset of human dendritic cell precursor express different Toll-Like Receptors and respond to different microbial antigens. *The Journal of Experimental Medicine*, 194 (6) : 863-870
- Kardiman, 1999. *Pestisida Hayati Ramuan dan Aplikasi*. Jakarta : Penebar Swadaya, hlm 80
- Kardinan, A. dan Taryono, 2003. *Tanaman Obat Penggempur Kanker*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka, hlm 74-78
- Kardinan dan Dhalimi, 2003. Mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) Tanaman Multi Manfaat. *Perkembangan Teknologi Tro*, Vol.XV (1) : hlm 3-4
- Kuswadji, 1999. Kandidosis. Dalam : *Ilmu penyakit kulit dan kelamin*. Jakarta : FKUI, hlm 103 -106
- Martin A.G. Kobayashi. 1992. Yeast Infection. In : *Fitzpatrick TB. Dermatology in general medicine*. 4th ed. New York : Mc. Graw Hill Inc, pp 2452 – 2462
- Mirin, 1997. Pengujian kemampuan beberapa fungisida nabati untuk pengendalian penyakit layu furasium pada tomat. Universitas Syah Kuala. *Jurnal Agrista* 1 (2) : 7 – 62
- Mulyati dan P.K.Syarifuddin, 1994. Sumber infeksi kandidiasis vagina. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 44 : 251 – 255
- Murtiastutik D., 2008. Kandidiasis Vulvovaginalis. Dalam : *Buku Ajar Menular Seksual*. Cetakan I. Surabaya : Airlangga University Press, hlm 56 – 63
- Nasution S., 2004. *Metode Research (Penelitian Ilmiah)* Ed.1. Jakarta : Bumi Aksara, hlm 35

- Netea G. Mihai, A.R. Neil, Gow, Carol A. Monro, Stevens Bates, Claire Colins, Gerben Ferweda, Richard P.Hudson, Gwyneth Bertram, H. Bledy Hughes, Trees Jansen, Lisbeth Jacobs, Ed T. Buurman, Karlijn Gizjen, David L. Williams, Ruurd Torensma, Odds, Jos W.M. Van dr Meer, Alistair J.P. Brown dan Bart Jan Kullberg, 2006. Immune Sensing of *Candida Albicans* Requires Cooperative of Mannan dan Glucans by Lectin dan Toll-Like Receptors. *J. Clin. Invest.* 116 : 1642-1650 .
- Newman Simon L. dan Angela Holly, 2001. *Candida albicans* is phagocytosed, killed, dan processed for antigen presentation by human dendritic cells. *Infection dan Immunity.* 69 (11) : 6813 – 6822.
- Pappas PG, J.H. Rex, D.J Sobel, S.G. Filer, W.E. Dismukes, T.J. Walsh, J.E. Edwards, 2004. Guidelines for treatment of candidiasis. *CID.* 38 :161 -189
- Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya, 2008. Pedomam Penulisan Tesis dan Disertasi.
- Ramali L.M. dan S. Werdani, 2000. Kandidiasis kutan dan mukokutan. Dalam : *Dermatomikosis superfisialis*. Jakarta : FKUI, hlm 55 – 65
- Ray, Banerjee BD, Sen P., 1996. Modulation of humoral and cell-mediated immune responses by *Azadirachta indica* (Neem) in mice. *Indian J Exp Biol.* Jul;34(7):698-701.
- Reiss E, V.M. Hearn, D. Poulain, 1992. Structure and function of the fungal cell wall. *Med. Vet.Mycol.*30, pp 143 – 156
- Riana Conny Tjampakasari, 2006. Karakteristik *Candida albicans*. *Cermin dunia kedokteran*. No.151, hlm 34 – 36
- Richardson MD dan F.S. Shankland, 1991. Epidemiology and pathogenesis of candidosis. *Candida today*, pp 3 – 7
- Rippon W.J., 1988. Candidiasis. In : *Medical Mycology the Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*. 3rd ed. Phyladelphia, pp 536 – 580
- Ruskin F.R., 1993. *Neem: A tree for solving global problems*. Washington D.C. : Academy Press, pp 141
- Sadekar, A.Y. Kolte, B.S. Barnase, V.F. Desai, 1998. Immunopotentiating effects of *Azadirachta indica* (Neem) dry leaves powder in broilers, naturally infected with IBD virus, *Indian J Exp Biol.* Nov;36(11):1151-3

- Sairam, Sharma SK, Havazhagan G, Kumar D, Selavamurthy W., 1997. Immunomodulatory effect of NIM-76, a volatile fraction from Neem oil. *J Ethnopharmacol.* Jan:55(2):133-139
- Samaranayake Yuthika H dan Laksman P. Samaranayake, 2001. Experimental oral candidiasis in animal models. *Clinical microbiology review*, April: Vol : 14 (2) : 398 – 429
- Sastrodihardjo, S., 1988. Evaluasi Daya Insektisida Dari Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica A. juss*). Seminar Hasil Penelitian Pangan dan Gizi, Ilmu Hayati, 17 PAU: Jakarta, hlm 18
- Sato Morohito, Hitomi Sano, Daisuke Iwaki, Kazumi Kudo, Masanori Konishi, Hiroki Takahashi, Toru Takahashi, Hithosi Imazumi, Yasufumi Asai dan Yoshiro Kuroki, 2003. Direct binding of *Toll-Like Receptors 2* to zymosan dan TNF α secretion are down-regulated by lung collectin surfactan protein A. *The Journal of Immunology*, 171: 417-425
- Segal Baum, 1994. *Pathogenic yeast and yeast infections*. Tokyo : Press Inc, pp 60
- Sobel J.D., 1999. *Vulvovaginal Candidiasis in Sexually Transmitted Diseases*. 3rd. United States of America. The Mc. Graw – Hill Company, pp 629 – 639
- Soedarmadi, 1990. Standarisasi Diagnosis dan penatalaksanaan kandidiasis genital. Dalam : *Standarisasi Diagnostik dan Penatalaksanaan Beberapa Penyakit Menular Seksual*. Jakarta : FKUI, hlm 175 – 181
- Soedarmadi, 1997. Kandidiasis. Dalam : *Penyakit menular seksual*. Jakarta : FKUI, hlm 73 – 74
- Subchan P. Subakir, 2001. Hubungan antar jumlah kandida didalam rectum dengan kandidiasis vagina. MD (VI) : 4 – 6.
- Subowo, 2009. *Imunobiologi*. Jakarta : Sagung Seto, hlm 150 – 160, 258 – 268
- Sudarmadji D, 1999. Mimba insektisida alami. *Trubus.Tahun IV (44)* : 20 – 21.
- Sugiman T. dan S. Radiono, 2000. Kandidosis Vulvovaginalis. Dalam : *Diagnosis dan penatalaksanaan dermatomikosis*. Jakarta : FKUI, hlm 74 – 77
- Sukrasno, 2003. *Mimba Tanaman Obat Multifungsi*. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hlm: 7-23.

Syafrisar.2007.Infertilitas. <http://anggrekidea.blogspot.com/2007/11/Infertilitas/html>.
23 Januari 2009.

Sylvia, 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga, hlm 129, 162.

Talwar, S. Shah, S. Mukherjee, R. Chabra, 1997. Induced termination of pregnancy by purified extracts of *Azadirachta indica* (Neem) : Mechanism involved. *Am J Reprod Immunol*. 37(6) : 485-91.

Ulmann Breanna D, Hadley Myers, Wiriya Chirandan, Anna L.Lazzell, Qiang Zhao, Luis A.Vega, Jose L. Lopez-Ribot, Paul R. Gardner dan Michael C.Gustin, 2004. Inducible defense mechanism against Nitric Oxide in *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*. 3 (3) : 715-723.

Upadhayay Dhawan S, S. Garg, GP. Talwar, 1992. Immunomodulation effects of neem (*Azadirachta indica*) oil. *International Journal immunopharmacol*, Oct;14(7):1187-93.

United States Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2006. Sexuality transmitted diseases treatment guidelines. *MMWR* : 55 : RR – 11.

Van Dick E., A.Z. Meheus, Piot P. 1997. *Laboratory diagnosis of sexually transmitted diseases*. Geneva : Finland, pp 82

WHO. 2003. Guidelines for the management of sexuality transmitted infections.

Winarto Hariyono dan Noroyono Wibowo. Review Artikel. Peran Imunitas Seluler Lokal pada Kandidosis Vulvovagina Rekurens. [File:///E:/imun c albican.htm](File:///E:/imun%20c%20albican.htm).
Diakses tanggal 5-12-2005. Jam 09.00 wib
www.tempo.co.id/medika/online/tmp.online.co.id/pus-2.htm-18k-supplemental
[Result.retrieved.13 Juli 05](http://Result.retrieved.13%20Juli%2005).

Lampiran 1

**KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS PADA HEWAN UNTUK BEBERAPA
JENIS HEWAN DAN MANUSIA**

	Mouse 20 g	Rat 200 g	Guena pig 400 g	Rabbit 1,5 kg	Cat 2 kg	Monkey 4 kg	Dog 12 kg	Man 70 kg	Man 50 kg
Mouse 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9	277,1
Rat 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	58,0	39,9
Guena pig 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5	22,5
Rabbit 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2	10,1
Cat 2 kg	0,03	0,23	0,41	,092	1,0	2,2	4,1	13,0	9,3
Monkey 4 kg	0,016	0,11	0,19	,042	0,45	1,0	1,9	6,1	4,4
Dog 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1	2,2
Man 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0	0,7

(Diah K, 2004)

Lampiran 2

Dosis ekstrak daun mimba pada kelompok perlakuan.

Dosis untuk uji obat adalah dosis yang lazim digunakan untuk subyek manusia sehat yang dikonversikan pada binatang. Nilai konversi dari manusia (70 kg) untuk tikus (200 g) adalah 0,018 (Dyah, 2004). Dosis yang lazim digunakan untuk subyek manusia Indonesia (50 kg) adalah 5 g, sehingga dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg adalah : $\frac{70}{50} \times 5g = 7g$. Untuk tikus dengan berat badan 200 g dosis yang diberikan adalah $7g \times 0,018 = 0,126g$. Jadi dosis untuk per kg berat badan tikus adalah $1000/200 \times 0,126 = 0,63g/kgBB$. Bila menggunakan ekstrak etanol dari 950 g daun mimba kering didapatkan ekstrak kental 310 g ($\pm 30\%$) sehingga diperoleh dosis $0,63g \times 0,3g = 0,19g$.

Maka, dosis untuk dosis khasiat ekstrak daun mimba adalah :

Dosis I : dosis lazim, yaitu ekstrak daun mimba yang setara dengan 0,19 g /kgBB tikus $\rightarrow 38 mg/200 g BB tikus \rightarrow 19 mg/100 g BB tikus$.

Dosis II: $3 \times$ dosis lazim, yaitu ekstrak daun mimba yang setara dengan $3 \times 0,19g = 0,57g/kgBB tikus \rightarrow 114 mg/200 g BB tikus \rightarrow 57 mg/100 g BB tikus$.

Dosis III : $5 \times$ dosis lazim, yaitu ekstrak yang setara dengan $5 \times 0,19 = 0,95 g/kgBB tikus \rightarrow 190 mg/200 g BB tikus \rightarrow 95 mg/100 g BB tikus$.

Lampiran 3

Kelompok kontrol negatif (K-)

Kelompok kontrol negatif (K-) selama 21 hari tidak diberi perlakuan apapun. Pengamatan dilakukan bersamaan dengan kelompok perlakuan yaitu sebelum dan setelah perlakuan.

1. Tikus sebanyak 6 ekor ditempatkan dikandang yang telah disediakan terpisah dengan kelompok yang lain.
2. Dilakukan pemeriksaan jumlah balstospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan makrofag bersamaan dengan kelompok perlakuan maupun kelompok K+.
3. Setelah kelompok lain diberi perlakuan selama 21 hari bersamaan dilakukan pemeriksaan jumlah blastospora, pseudohifa, koloni *C albicans* dan sel makrofag.

Lampiran 4

Dosis kelompok kontrol positif (K+) dengan anti jamur (Flukonazol).

1. Tablet yang digunakan adalah anti jamur.
2. Satu tablet anti jamur mengandung 50 mg (untuk dosis manusia) diberikan per oral / hari selama 7 hari.
3. Berat rata-rata tikus/Berat rata-rata manusia x standar pemberian anti jamur
→ $200 \text{ g} / 50000 \text{ g} \times 50 \text{ mg} = 0,2 \text{ mg}$ → $0,2 \text{ mg} \times 7 \text{ hari} = 1,4 \text{ mg}$ (bila digunakan eksperimen sebagai kontrol yang diberikan selama 21 hari maka $1,4 \text{ mg} : 21 \text{ hari} = 0,07 \text{ mg} / \text{hari}$) → $0,035 \text{ mg/hari}$.

Lampiran 5**PENGHITUNGAN JUMLAH BLASTOSPORA DAN PSEUDOHIFA**

1. Dilakukan swab vagina pada tikus kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.
2. Selanjutnya dioleskan pada obyek glas dan diangin-anginkan
3. Ditetesi zat warna LCB
4. Kemudian dicuci dengan air mengalir pelan-pelan dan diangin-anginkan.
5. Diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x dan dihitung jumlah blastospora dan pseudohifa dalam 5 kali lapang pandang.

Lampiran 6

PENGHITUNGAN JUMLAH KOLONI *C albicans*

Secara kuantitatif penghitungan jumlah koloni *C albicans* dapat dilakukan dengan menggunakan *Total Plate Count* (TPC) atau dengan *Quebeck Colony Counter*.

1. Dilakukan swab vagina tikus kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol dengan menggunakan *cotton bud* steril yang diulaskan beberapa kali dan dimasukkan dalam PBS 1 ml.
2. Kemudian diencerkan dengan PZ dan ditanam pada *saburoud's* dekstrosa agar yang telah disediakan.
3. Dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 48 jam.
4. Penghitungan koloni *C albicans* dengan menggunakan *colony counter*.

Lampiran 7**PENGHITUNGAN JUMLAH SEL MAKROFAG**

1. Dilakukan swab vagina pada tikus kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.
2. Selanjutnya dioleskan pada obyek glas dan diangin-anginkan
3. Ditetesi zat warna *Giemsa*.
4. Kemudian dicuci dengan air mengalir pelan-pelan dan diangin-anginkan.
5. Diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x dan dihitung sel makrofagnya dalam 5 kali lapang pandang.

Lampiran 8 : Data sebelum perlakuan

Kelompok Tikus	Blastospora						Pseudohifa						Koloni C Albicans						Sel makrofag					
	1	2	3	4	5	μ	1	2	3	4	5	μ	1	2	3	4	5	μ	1	2	3	4	5	μ
Kontrol -	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	6	8	7	8	4	6.60
	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	7	9	7	8	7	7.60
	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	7	4	9	5	7	6.40
	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	8	5	4	7	5	5.80
	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	5	4	3	5	4	4.20
	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	5	6	7	8	5	6.20
Kontrol +	2	3	2	5	2	2.80	1	2	3	2	0	1.60	120	21				28.20	3	5	4	7	6	5.00
	8	4	4	6	4	5.20	5	2	2	2	2	2.60	7	143	16			33.20	8	6	5	7	4	6.00
	3	3	3	2	0	2.20	4	2	2	0	0	1.60	7	88	1			19.20	4	6	3	6	4	4.60
	4	6	5	3	4	4.40	6	7	4	9	6	6.40	7	119	7			26.60	4	3	5	3	5	4.00
	4	4	4	2	0	2.80	2	0	0	0	0	0.40	7	45	9			12.20	9	6	7	6	4	6.40
	7	5	7	7	10	7.20	10	5	6	10	9	8.00	7	66	4			15.40	7	5	4	6	4	5.20
P1	8	13	15	10	10	11.20	7	8	10	12	8	9.00	7	15	4			5.20	5	8	5	6	9	6.60
	6	5	0	6	3	4.00	5	4	0	5	2	3.20	172	18	4			38.80	6	5	6	5	6	5.60
	1	4	3	0	2	2.00	0	2	4	0	2	1.60	161	42	3			41.20	5	6	4	3	7	5.00
	1	2	1	0	5	1.80	2	0	0	0	2	0.80	114	27	2			28.60	4	5	4	7	5	5.00
	5	4	3	2	2	3.20	3	2	1	1	0	1.40	139	14	4			31.40	6	6	5	4	5	5.20
	3	5	2	2	3	3.00	5	4	2	4	4	3.80	173	15	4			38.40	5	4	4	4	3	4.00
P2	3	3	3	2	0	2.20	2	3	2	0	1	1.60	108	42	5			31.00	5	5	4	5	6	5.00
	3	2	4	1	1	2.20	2	2	1	0	1	1.20	7	92	9			21.60	4	6	3	5	4	4.40
	10	6	5	5	2	5.60	10	6	5	0	0	4.20	172	87	8			53.40	3	6	4	5	3	4.20
	4	0	0	0	0	0.80	1	0	0	0	0	0.20	140	72	7			43.80	6	4	5	3	4	4.40
	5	2	4	2	0	2.60	2	4	3	0	2	2.20	109	71	4			36.80	5	3	7	5	6	5.20
	7	3	0	2	1	2.60	5	2	0	3	2	2.40	122	20	2			28.80	3	5	4	5	7	4.80
P3	5	4	2	1	2	2.80	2	3	2	2	1	2.00	7	74	4			17.00	3	4	6	3	4	4.00
	5	3	7	4	5	4.80	1	2	2	0	0	1.00	136	55	4			39.00	3	6	5	5	3	4.40
	3	2	4	3	2	2.80	8	2	3	0	1	2.80	170	15	1			37.20	2	3	5	2	1	2.60
	5	3	0	3	2	2.60	1	0	0	2	1	0.80	140	20	4			32.80	4	2	6	3	2	3.40
	4	3	4	3	3	3.40	5	3	4	5	2	3.80	150	50	8			41.60	3	4	3	5	1	3.20
	7	5	4	3	4	4.60	8	5	4	7	8	6.40	182	40	5			45.40	7	5	8	5	4	5.80

Lampiran 9 : Data setelah perlakuan

Kelompok Tikus	Blastospora						Pseudohifa						Koloni C Albicans						Sel makrofag					
	1	2	3	4	5	μ	1	2	3	4	5	μ	1	2	3	4	5	μ	1	2	3	4	5	μ
Kontrol -	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0					0.00	10	12	11	10	11	10.80
	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0					0.00	8	5	7	8	7	7.00
	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0					0.00	6	7	8	9	7	7.40
	1		1	1		0.60	1	2	1	0		0.80	1					0.20	8	7	9	7	8	7.80
	0		0	0		0.00	0		0	0		0.00	0					0.00	10	11	10	11	10	10.40
	2		0	0		0.40	1		1			0.40	2					0.40	7	8	6	7	8	7.20
Kontrol +	1	0				0.20	0			1		0.20	0		1			0.20	23	20	28	30	20	24.20
	1	0				0.20	1					0.20	0		1			0.20	47	46	40	36	27	39.20
	0	1				0.20	0		1			0.20	0		1			0.20	25	29	30	23	27	26.80
	0					0.00	0					0.00	0					0.00	25	37	51	57	47	43.40
	0					0.00	0					0.00	1					0.20	22	24	30	26	22	24.80
	0					0.00	0					0.00	0					0.00	22	25	21	27	19	22.80
P1	2					0.40	1					0.20	2					0.40	17	18	17	16	13	16.20
	0					0.00	0					0.00	0					0.00	14	16	10	14	13	13.40
	1					0.20	1					0.20	2					0.40	16	12	11	14	12	13.00
	0				1	0.20						0.00	0					0.00	12	10	15	18	15	14.00
	0		1			0.20						0.00	0					0.00	13	11	14	12	14	12.80
	0	1				0.20		1				0.20	2					0.40	10	9	11	14	13	11.40
P2	1					0.20		1		1		0.40	1					0.20	12	14	10	10	12	11.60
	0					0.00						0.00	0					0.00	14	18	19	17	16	16.80
	0					0.00						0.00	0					0.00	17	19	16	19	17	17.60
	1					0.20			1			0.20	1					0.20	15	17	16	16	12	15.20
	1					0.20					1	0.20	0		1			0.20	12	15	16	17	16	15.20
	0					0.00						0.00	0					0.00	13	16	14	14	17	14.80
P3	0					0.00						0.00						0.00	20	19	22	21	24	21.20
	0					0.00						0.00						0.00	33	39	29	27	31	31.80
	0					0.00						0.00						0.00	20	27	27	26	20	24.00
	0					0.00						0.00						0.00	30	29	27	26	33	29.00
	0					0.00						0.00						0.00	22	27	25	34	29	27.40
	0					0.00						0.00						0.00	37	22	24	19	30	26.40

Lampiran 10 : Analisis Hasil Penelitian

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		blastophora pre	psudohifa pre	koloni C albicans pre	makroflag pre	blastophora post	psudohifa post	koloni C albicans post	makroflag post	perubahan jumlah blastophora	perubahan jumlah pseudohifa	perubahan jumlah koloni	perubahan jumlah makroflag
N		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000	,0000	,0000	6,1333	,1667	,2000	,1000	8,4333	-,1667	-,2000	-,1000	-,2000
	Std. Deviation	,0000 ^c	,0000 ^c	,0000 ^c	1,12190	,26583	,33466	,16733	1,70372	,26583	,33466	,16733	2,47790
Most Extreme Differences	Absolute				,217	,401	,392	,392	,312	,401	,392	,392	,215
	Positive				,172	,401	,392	,392	,312	,265	,275	,275	,133
	Negative				-,217	-,265	-,275	-,275	-,209	-,401	-,392	-,392	-,215
Kolmogorov-Smirnov Z				,530	,983	,959	,959	,763	,983	,959	,959	,526	
Asymp. Sig. (2-tailed)				,941	,289	,316	,316	,605	,289	,316	,316	,945	

a. Test distribution is Normal.
 b. Calculated from data.
 c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		blastophora pre	psudohifa pre	koloni C albicans pre	makroflag pre	blastophora post	psudohifa post	koloni C albicans post	makroflag post	perubahan jumlah blastophora	perubahan jumlah pseudohifa	perubahan jumlah koloni	perubahan jumlah makroflag
N		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,1000	3,4333	22,4667	5,2000	,1000	,1000	,1333	30,2000	4,0000	3,3333	22,3333	-,250000
	Std. Deviation	1,89209	3,04215	8,13847	8,8544	,10954	,10954	,10328	8,79454	1,93907	3,10269	8,12469	9,10385
Most Extreme Differences	Absolute	,254	,275	,194	,167	,319	,319	,407	,317	,232	,285	,200	,287
	Positive	,254	,275	,156	,167	,319	,319	,259	,317	,232	,285	,159	,208
	Negative	-,158	-,169	-,194	-,150	-,319	-,319	-,407	-,200	-,151	-,172	-,200	-,287
Kolmogorov-Smirnov Z	,622	,673	,476	,408	,782	,782	,998	,777	,568	,698	,491	,704	
Asymp. Sig. (2-tailed)	,834	,756	,977	,996	,573	,573	,272	,582	,903	,715	,970	,704	

a. Test distribution is Normal.
 b. Calculated from data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		blastophora pre	psudohifa pre	koloni C albicans pre	makroflag pre	blastophora post	psudohifa post	koloni C albicans post	makroflag post	perubahan jumlah blastophora	perubahan jumlah pseudohifa	perubahan jumlah koloni	perubahan jumlah makroflag
N		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,2000	3,3000	30,6000	5,2333	,2000	,1000	,2000	13,4667	4,0000	3,2000	30,4000	-,82333
	Std. Deviation	3,52363	3,01662	13,34346	8,5245	,12649	,10954	,21909	1,59332	3,44325	2,95838	13,38716	,87101
Most Extreme Differences	Absolute	,356	,268	,274	,225	,333	,319	,319	,202	,333	,280	,280	,272
	Positive	,356	,268	,213	,182	,333	,319	,319	,202	,333	,280	,219	,169
	Negative	-,248	-,204	-,274	-,225	-,333	-,319	-,319	-,171	-,243	-,209	-,280	-,272
Kolmogorov-Smirnov Z	,872	,655	,671	,552	,816	,782	,782	,495	,816	,685	,685	,667	
Asymp. Sig. (2-tailed)	,433	,784	,759	,920	,518	,573	,573	,967	,518	,736	,735	,765	

a. Test distribution is Normal.
 b. Calculated from data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		blastophora pre	psudohifa pre	koloni C albicans pre	makroflag pre	blastophora post	psudohifa post	koloni C albicans post	makroflag post	perubahan jumlah blastophora	perubahan jumlah pseudohifa	perubahan jumlah koloni	perubahan jumlah makroflag
N		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2,6667	1,9667	35,9000	4,6667	,1000	,1333	,1000	15,2000	2,5667	1,8333	35,8000	-,10,5333
	Std. Deviation	1,58325	1,34710	11,38754	3,9328	,10954	,16330	,10954	2,07075	1,64641	1,42220	11,37436	2,35853
Most Extreme Differences	Absolute	,350	,207	,167	,251	,319	,293	,319	,257	,325	,178	,170	,244
	Positive	,350	,207	,167	,251	,319	,293	,319	,167	,325	,178	,170	,244
	Negative	-,217	-,118	-,105	-,135	-,319	-,207	-,319	-,257	-,199	-,161	-,106	-,122
Kolmogorov-Smirnov Z	,858	,507	,408	,615	,782	,717	,782	,629	,797	,437	,416	,597	
Asymp. Sig. (2-tailed)	,454	,959	,996	,844	,573	,682	,573	,824	,549	,991	,995	,868	

a. Test distribution is Normal.
 b. Calculated from data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		blastophora pre	pseudohifa pre	koloni C albicans pre	makrofag pre	blastophora post	pseudohifa post	koloni C albicans post	makrofag post	perubahan jumlah blastophora	perubahan jumlah pseudohifa	perubahan jumlah koloni	perubahan jumlah makrofag
N		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3,5000	2,8000	35,5000	3,9000	,0000	,0000	,0000	26,6333	3,5000	2,8000	35,5000	-22,7333
	Std. Deviation	,96954	2,08993	9,99900	1,12250	,00000 ^c	,00000 ^c	,00000 ^c	3,72541	,96954	2,08998	9,99900	3,71735
Most Extreme Differences	Absolute	,265	,169	,234	,172				,142	,265	,169	,234	,153
	Positive	,265	,167	,161	,172				,096	,265	,167	,161	,153
	Negative	-,205	-,169	-,234	-,123				-,142	-,205	-,169	-,234	-,140
Kolmogorov-Smirnov Z		,649	,415	,574	,421				,347	,649	,415	,574	,376
Asymp. Sig. (2-tailed)		,794	,995	,897	,994				1,000	,794	,995	,897	,999

^a Test distribution is Normal.
^b Calculated from data.
^c The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

blastophora pre

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,707	4	25	,053

ANOVA

blastophora pre

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	71,725	4	17,931	4,611	,006
Within Groups	97,213	25	3,889		
Total	168,939	29			

T-Test

Paired Samples Statistics

Pair		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	blastophora pre	,0000	6	,00000	,00000
	blastophora post	,1667	6	,26583	,10853

Paired Samples Correlations

Pair		N	Correlation	Sig.
1	blastophora pre & blastophora post	6		

Paired Samples Test

Pair		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
1	blastophora pre - blastophora post	-,16667	,26583	,10853	-,44564	,11231	-1,536	5	,185

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	blastophora pre - blastophora post	4,1000	6	1,89209	,77244
		,1000	6	,10954	,04472

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	blastophora pre & blastophora post	6	-,405	,425

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	blastophora pre - blastophora post	4,00000	1,93907	,79162	1,96507	6,03493	5,053	5	,004

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	blastophora pre - blastophora post	4,2000	6	3,52363	1,43852
		,2000	6	,12649	,05164

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	blastophora pre & blastophora post	6	,646	,166

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	blastophora pre - blastophora post	4,00000	3,44325	1,40570	,38653	7,61347	2,846	5	,036

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	blastophora pre	2,6667	6	1,58325	,64636
	blastophora post	,1000	6	,10954	,04472

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	blastophora pre & blastophora post	6	-,554	,255

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	blastophora pre - blastophora post	2,56667	1,64641	,67214	,83887	4,29447	3,819	5	,012

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	blastophora pre	3,5000	6	,96954	,39581
	blastophora post	,0000	6	,00000	,00000

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	blastophora pre & blastophora post	6	.	.

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	blastophora pre - blastophora post	3,50000	,96954	,39581	2,48253	4,51747	8,843	5	,000

One-way

Test of Homogeneity of Variances

perubahan jumlah blastophora

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,169	4	25	,102

ANOVA

perubahan jumlah blastophora

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73,341	4	18,335	4,741	,006
Within Groups	96,687	25	3,867		
Total	170,028	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: perubahan jumlah blastophora

LSD

(I) klp perlakuan	(J) klp perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	-4,16667*	1,13541	,001	-6,5051	-1,8282
	P1	-4,16667*	1,13541	,001	-6,5051	-1,8282
	P2	-2,73333*	1,13541	,024	-5,0718	-,3949
	P3	-3,66667*	1,13541	,003	-6,0051	-1,3282
K+	K-	4,16667*	1,13541	,001	1,8282	6,5051
	P1	,00000	1,13541	1,000	-2,3384	2,3384
	P2	1,43333	1,13541	,218	-,9051	3,7718
	P3	,50000	1,13541	,663	-1,8384	2,8384
P1	K-	4,16667*	1,13541	,001	1,8282	6,5051
	K+	,00000	1,13541	1,000	-2,3384	2,3384
	P2	1,43333	1,13541	,218	-,9051	3,7718
	P3	,50000	1,13541	,663	-1,8384	2,8384
P2	K-	2,73333*	1,13541	,024	,3949	5,0718
	K+	-1,43333	1,13541	,218	-3,7718	,9051
	P1	-1,43333	1,13541	,218	-3,7718	,9051
	P3	-,93333	1,13541	,419	-3,2718	1,4051
P3	K-	3,66667*	1,13541	,003	1,3282	6,0051
	K+	-,50000	1,13541	,663	-2,8384	1,8384
	P1	-,50000	1,13541	,663	-2,8384	1,8384
	P2	,93333	1,13541	,419	-1,4051	3,2718

*. The mean difference is significant at the .05 level.

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	psudohifa pre	,0000	6	,00000	,00000
	psudohifa post	,2000	6	,33466	,13663

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	psudohifa pre & psudohifa post	6		

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	psudohifa pre - psudohifa post	-,20000	,33466	,13663	-,55121	,15121	-1,464	5	,203

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	psudohifa pre	3,4333	6	3,04215	1,24195
	psudohifa post	,1000	6	,10954	,04472

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	psudohifa pre & psudohifa post	6	-,540	,269

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	psudohifa pre - psudohifa post	3,33333	3,10269	1,26667	,07726	6,58940	2,632	5	,046

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	psudohifa pre	3,3000	6	3,01662	1,23153
	psudohifa post	,1000	6	,10954	,04472

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	psudohifa pre & psudohifa post	6	,545	,264

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	psudohifa pre - psudohifa post	3,20000	2,95838	1,20775	,09537	6,30463	2,650	5	,045

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	psudohifa pre	1,9667	6	1,34710	,54995
	psudohifa post	,1333	6	,16330	,06667

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	psudohifa pre & psudohifa post	6	-,412	,417

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	psudohifa pre - psudohifa post	1,83333	1,42220	,58061	,34082	3,32585	3,158	5	,025

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	psudohifa pre	2,8000	6	2,08998	,85323
	psudohifa post	,0000	6	,00000	,00000

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	psudohifa pre & psudohifa post	6		

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	psudohifa pre - psudohifa post	2,80000	2,08998	,85323	,60670	4,99330	3,282	5	,022

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

psudohifa pre

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,648	4	25	,018

T-Test

Group Statistics

	klp perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	K-	6	,0000	,00000	,00000
	K+	6	3,4333	3,04215	1,24195

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	22,416	,001	-2,764	10	,020	-3,43333	1,24195	-6,20057	-,66609
	Equal variances not assumed			-2,764	5,000	,040	-3,43333	1,24195	-6,62587	-,24079

T-Test

Group Statistics

klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	K-	6	,0000	,00000	,00000
	P1	6	3,3000	3,01662	1,23153

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	6,448	,029	-2,680	10	,023	-3,30000	1,23153	-6,04402	-,55598
	Equal variances not assumed			-2,680	5,000	,044	-3,30000	1,23153	-6,46575	-,13425

T-Test

Group Statistics

klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	K-	6	,0000	,00000	,00000
	P2	6	1,9667	1,34710	,54995

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	8,087	,017	-3,576	10	,005	-1,96667	,54995	-3,19203	-,74130
	Equal variances not assumed			-3,576	5,000	,016	-1,96667	,54995	-3,38036	-,55298

T-Test

Group Statistics

klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	K-	6	,0000	,00000	,00000
	P3	6	2,8000	2,08998	,85323

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	9,121	,013	-3,282	10	,008	-2,80000	,85323	-4,70111	-.89889
	Equal variances not assumed			-3,282	5,000	,022	-2,80000	,85323	-4,99330	-.60670

T-Test

Group Statistics

klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	K+	6	3,4333	3,04215	1,24195
	P1	6	3,3000	3,01662	1,23153

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	,209	,657	,076	10	,941	,13333	1,74903	-3,76375	4,03042
	Equal variances not assumed			,076	9,999	,941	,13333	1,74903	-3,76379	4,03046

-Test

Group Statistics

klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	K+	6	3,4333	3,04215	1,24195
	P2	6	1,9667	1,34710	,54995

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	6,010	,034	1,080	10	,306	1,46667	1,35827	-1,55974	4,49307
	Equal variances not assumed			1,080	6,888	,317	1,46667	1,35827	-1,75572	4,68905

T-Test

Group Statistics

klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	K+	6	3,4333	3,04215	1,24195
	P3	6	2,8000	2,08998	,85323

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	1,773	,213	,420	10	,683	,63333	1,50680	-2,72402	3,99069
	Equal variances not assumed			,420	8,860	,684	,63333	1,50680	-2,78352	4,05018

T-Test

Group Statistics

klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	P1	6	3,3000	3,01662	1,23153
	P2	6	1,9667	1,34710	,54995

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	1,555	,241	,989	10	,346	1,33333	1,34874	-1,67186	4,33852
	Equal variances not assumed			,989	6,918	,356	1,33333	1,34874	-1,86363	4,53030

T-Test

Group Statistics

klp perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre	P1	6	3,3000	3,01662	1,23153
	P3	6	2,8000	2,08998	,85323

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	,309	,590	,334	10	,745	,50000	1,49822	-2,83824	3,83824
	Equal variances not assumed			,334	8,901	,746	,50000	1,49822	-2,89496	3,89496

-Test

Group Statistics

klp perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
psudohifa pre P2	6	1,9667	1,34710	,54995
P3	6	2,8000	2,08998	,85323

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
psudohifa pre	Equal variances assumed	,860	,376	-,821	10	,431	-,83333	1,01511	-3,09514	1,42847
	Equal variances not assumed			-,821	8,543	,434	-,83333	1,01511	-3,14853	1,48186

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

perubahan jumlah pseudohifa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,983	4	25	,038

ANOVA

perubahan jumlah pseudohifa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51,232	4	12,808	2,574	,062
Within Groups	124,407	25	4,976		
Total	175,639	29			

Robust Tests of Equality of Means

perubahan jumlah pseudohifa

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	2,574	4	16,084	,077

a. Asymptotically F distributed.

F-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	koloni C albicans pre	,0000	6	,00000	,00000
	koloni C albicans post	,1000	6	,16733	,06831

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	koloni C albicans pre & koloni C albicans post	6	.	.

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	koloni C albicans pre - koloni C albicans post	-,10000	,16733	,06831	-,27560	,07560	-1,464	5	,203

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	koloni C albicans pre	22,4667	6	8,13847	3,32252
	koloni C albicans post	,1333	6	,10328	,04216

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	koloni C albicans pre & koloni C albicans post	6	,140	,792

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	koloni C albicans pre - koloni C albicans post	22,33333	8,12469	3,31689	13,80699	30,85968	6,733	5	,001

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	koloni C albicans pre	30,6000	6	13,34346	5,44745
	koloni C albicans post	,2000	6	,21909	,08944

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	koloni C albicans pre & koloni C albicans post	6	-,192	,716

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	koloni C albicans pre - koloni C albicans post	30,40000	13,38716	5,46528	16,35104	44,44896	5,562	5	,003

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	koloni C albicans pre	35,9000	6	11,38754	4,64894
	koloni C albicans post	,1000	6	,10954	,04472

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	koloni C albicans pre & koloni C albicans post	6	,125	,813

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	koloni C albicans pre - koloni C albicans post	35,80000	11,37436	4,64356	23,86334	47,73666	7,710	5	,001

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	koloni C albicans pre	35,5000	6	9,99900	4,08207
	koloni C albicans post	,0000	6	,00000	,00000

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	koloni C albicans pre & koloni C albicans post	6		

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	koloni C albicans pre - koloni C albicans post	35,50000	9,99900	4,08207	25,00669	45,99331	8,697	5	,000

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

koloni C albicans pre

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,484	4	25	,069

ANOVA

koloni C albicans pre

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5350,685	4	1337,671	14,112	,000
Within Groups	2369,693	25	94,788		
Total	7720,379	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: koloni C albicans pre
LSD

(I) klp perlakuan	(J) klp perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	-22,46667*	5,62102	,000	-34,0434	-10,8900
	P1	-30,60000*	5,62102	,000	-42,1767	-19,0233
	P2	-35,90000*	5,62102	,000	-47,4767	-24,3233
	P3	-35,50000*	5,62102	,000	-47,0767	-23,9233
K+	K-	22,46667*	5,62102	,000	10,8900	34,0434
	P1	-8,13333	5,62102	,160	-19,7100	3,4434
	P2	-13,43333*	5,62102	,025	-25,0100	-1,8566
	P3	-13,03333*	5,62102	,029	-24,6100	-1,4566
P1	K-	30,60000*	5,62102	,000	19,0233	42,1767
	K+	8,13333	5,62102	,160	-3,4434	19,7100
	P2	-5,30000	5,62102	,355	-16,8767	6,2767
	P3	-4,90000	5,62102	,392	-16,4767	6,6767
P2	K-	35,90000*	5,62102	,000	24,3233	47,4767
	K+	13,43333*	5,62102	,025	1,8566	25,0100
	P1	5,30000	5,62102	,355	-6,2767	16,8767
	P3	,40000	5,62102	,944	-11,1767	11,9767
P3	K-	35,50000*	5,62102	,000	23,9233	47,0767
	K+	13,03333*	5,62102	,029	1,4566	24,6100
	P1	4,90000	5,62102	,392	-6,6767	16,4767
	P2	-,40000	5,62102	,944	-11,9767	11,1767

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

perubahan jumlah koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,381	4	25	,079

ANOVA

perubahan jumlah koloni

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5357,661	4	1339,415	14,111	,000
Within Groups	2373,053	25	94,922		
Total	7730,715	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: perubahan jumlah koloni

LSD

(I) klp perlakuan	(J) klp perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	-22,43333*	5,62501	,001	-34,0183	-10,8484
	P1	-30,50000*	5,62501	,000	-42,0849	-18,9151
	P2	-35,90000*	5,62501	,000	-47,4849	-24,3151
	P3	-35,60000*	5,62501	,000	-47,1849	-24,0151
K+	K-	22,43333*	5,62501	,001	10,8484	34,0183
	P1	-8,06667	5,62501	,164	-19,6516	3,5183
	P2	-13,46667*	5,62501	,024	-25,0516	-1,8817
	P3	-13,16667*	5,62501	,028	-24,7516	-1,5817
P1	K-	30,50000*	5,62501	,000	18,9151	42,0849
	K+	8,06667	5,62501	,164	-3,5183	19,6516
	P2	-5,40000	5,62501	,346	-16,9849	6,1849
	P3	-5,10000	5,62501	,373	-16,6849	6,4849
P2	K-	35,90000*	5,62501	,000	24,3151	47,4849
	K+	13,46667*	5,62501	,024	1,8817	25,0516
	P1	5,40000	5,62501	,346	-6,1849	16,9849
	P3	,30000	5,62501	,958	-11,2849	11,8849
P3	K-	35,60000*	5,62501	,000	24,0151	47,1849
	K+	13,16667*	5,62501	,028	1,5817	24,7516
	P1	5,10000	5,62501	,373	-6,4849	16,6849
	P2	-,30000	5,62501	,958	-11,8849	11,2849

*. The mean difference is significant at the .05 level.

T-Test

Paired Samples Statistics

Pair	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
1 makrofag pre	6,1333	6	1,12190	,45802
1 makrofag post	8,4333	6	1,70372	,69554

Paired Samples Correlations

Pair	N	Correlation	Sig.
1 makrofag pre & makrofag post	6	-,518	,293

Paired Samples Test

Pair	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Lower	Upper			
				Paired Differences				
1 makrofag pre - makrofag post	-2,30000	2,47790	1,01160	-4,90040	,30040	-2,274	5	,072

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	makrofag pre	5,2000	6	,88544	,36148
	makrofag post	30,2000	6	8,79454	3,59036

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	makrofag pre & makrofag post	6	-,305	,557

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	makrofag pre - makrofag post	-25,00000	9,10385	3,71663	-34,55390	-15,44610	-6,727	5	,001

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	makrofag pre	5,2333	6	,85245	,34801
	makrofag post	13,4667	6	1,59332	,65047

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	makrofag pre & makrofag post	6	,923	,009

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	makrofag pre - makrofag post	-8,23333	,87101	,35559	-9,14741	-7,31926	-23,154	5	,000

F-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	makrofag pre	4,6667	6	,39328	,16055
	makrofag post	15,2000	6	2,07075	,84538

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	makrofag pre & makrofag post	6	-,688	,131

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	makrofag pre - makrofag post	-10,53333	2,35853	,96287	-13,00846	-8,05821	-10,940	5	,000

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	makrofag pre	3,9000	6	1,12250	,45826
	makrofag post	26,6333	6	3,72541	1,52089

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	makrofag pre & makrofag post	6	,158	,765

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	makrofag pre - makrofag post	-22,73333	3,71735	1,51760	-26,63445	-18,83222	-14,980	5	,000

One-way

Test of Homogeneity of Variances

makrofag pre

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,700	4	25	,599

ANOVA

makrofag pre

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16,179	4	4,045	4,833	,005
Within Groups	20,920	25	,837		
Total	37,099	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: makrofag pre

LSD

(I) klp perlakuan	(J) klp perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	,93333	,52814	,089	-,1544	2,0211
	P1	,90000	,52814	,101	-,1877	1,9877
	P2	1,46667*	,52814	,010	,3789	2,5544
	P3	2,23333*	,52814	,000	1,1456	3,3211
K+	K-	-,93333	,52814	,089	-2,0211	,1544
	P1	-,03333	,52814	,950	-1,1211	1,0544
	P2	,53333	,52814	,322	-,5544	1,6211
	P3	1,30000*	,52814	,021	,2123	2,3877
P1	K-	-,90000	,52814	,101	-1,9877	,1877
	K+	,03333	,52814	,950	-1,0544	1,1211
	P2	,56667	,52814	,294	-,5211	1,6544
	P3	1,33333*	,52814	,018	,2456	2,4211
P2	K-	-1,46667*	,52814	,010	-2,5544	-,3789
	K+	-,53333	,52814	,322	-1,6211	,5544
	P1	-,56667	,52814	,294	-1,6544	,5211
	P3	,76667	,52814	,159	-,3211	1,8544
P3	K-	-2,23333*	,52814	,000	-3,3211	-1,1456
	K+	-1,30000*	,52814	,021	-2,3877	-,2123
	P1	-1,33333*	,52814	,018	-2,4211	-,2456
	P2	-,76667	,52814	,159	-1,8544	,3211

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

perubahan jumlah makrofag

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9,859	4	25	,000

ANOVA

perubahan jumlah makrofag

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2274,872	4	568,718	26,050	,000
Within Groups	545,800	25	21,832		
Total	2820,672	29			

Robust Tests of Equality of Means

perubahan jumlah makrofag

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	26,050	4	8,357	,000

a. Asymptotically F distributed.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: perubahan jumlah makrofag

Games-Howell

(I) klp perlakuan	(J) klp perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	22,70000*	3,85184	,007	8,0286	37,3714
	P1	5,93333*	1,07228	,008	1,9575	9,9092
	P2	8,23333*	1,39658	,001	3,6349	12,8318
	P3	20,43333*	1,82385	,000	14,2564	26,6103
K+	K-	-22,70000*	3,85184	,007	-37,3714	-8,0286
	P1	-16,76667*	3,73360	,031	-31,6352	-1,8981
	P2	-14,46667	3,83933	,053	-29,1525	,2191
	P3	-2,26667	4,01453	,976	-16,8639	12,3306
P1	K-	-5,93333*	1,07228	,008	-9,9092	-1,9575
	K+	16,76667*	3,73360	,031	1,8981	31,6352
	P2	2,30000	1,02643	,275	-1,4825	6,0825
	P3	14,50000*	1,55870	,001	8,4916	20,5084
P2	K-	-8,23333*	1,39658	,001	-12,8318	-3,6349
	K+	14,46667	3,83933	,053	-,2191	29,1525
	P1	-2,30000	1,02643	,275	-6,0825	1,4825
	P3	12,20000*	1,79728	,001	6,0733	18,3267
P3	K-	-20,43333*	1,82385	,000	-26,6103	-14,2564
	K+	2,26667	4,01453	,976	-12,3306	16,8639
	P1	-14,50000*	1,55870	,001	-20,5084	-8,4916
	P2	-12,20000*	1,79728	,001	-18,3267	-6,0733

*. The mean difference is significant at the .05 level.



KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Animal Care and Use Committee (ACUC)

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
 "ETHICAL CLEARANCE"

No : 070-KE

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :

PENELITIAN BERJUDUL : Aktifitas Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica Juss*) Terhadap Gambaran Blastopora, Pseudohifa, Jumlah Koloni *Candida albicans* dan Sel Makrofag pada Kandidiasis Vaginalis (penelitian eksperimental Laboratoris pada Hewan Coba *Rattus novvergicus*)

PENELITI UTAMA : Dwi Purwanti, S.Kp., Amd.Keb.

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Program Studi Ilmu Kesehatan
 Program Magister Fakultas Kedokteran
 Universitas Airlangga

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 25 Nopember 2009

Mengetahui,
 Dekan FKH Unair,

Ketua,

Prof. Romziah Sidik, Ph.D., drh.
 NIP. 130687305

Dr. E. Bimo Aksono, M.Kes., Drh.
 NIP. 132014464