

DISERTASI

**RESPONS IMUNOPATOBIOLOGIS MUKOSA MULUT  
UNTUK MENGUNGKAP IMUNOPATOBIOGENESIS  
INFEKSI *CANDIDA ALBICANS* PADA PENDERITA  
DIABETES MELLITUS**

(SUATU PENDEKATAN IMUNOPATOBIOLOGIS)



**HARLINA**

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2000

**RESPONS IMUNOPATOBIOLOGIS MUKOSA MULUT  
UNTUK MENGUNGKAP IMUNOPATOBIOGENESIS  
INFEKSI *CANDIDA ALBICANS* PADA PENDERITA  
DIABETES MELLITUS**

(SUATU PENDEKATAN IMUNOPATOBIOLOGIS)

**DISERTASI**

Untuk memperoleh gelar Doktor  
dalam Ilmu Kedokteran  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
dan telah dipertahankan di hadapan  
Dewan Ujian Doktor Terbuka  
pada hari Senin  
tanggal 17 Juli 2000  
jam 10.00 WIB

Oleh:

**H A R L I N A**  
NIM. 099512071-D

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2000**

**LEMBAR PENGESAHAN**

NASKAH DISERTASI INI  
TELAH DISETUJUI  
PADA TANGGAL, 3 AGUSTUS 2000


OLEH

PROMOTOR



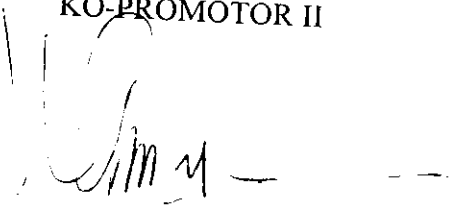
PROF Dr H ASKANDAR TJOKTOPRAWIRO, dr  
NIP: 130 238 887

KO-PROMOTOR I



PROF Dr PG KONTHEN, dr  
NIP: 130 189 829

KO-PROMOTOR II



Dr SUHARTONO TAAT PUTRA, dr, MS  
NIP: 130 934 628

Telah diuji pada Ujian Tertutup  
Tanggal 10 Mei 2000

---

**PANITIA PENGUJI DISERTASI**

Ketua : Prof. Dr. Pitono Soeparto, dr

Anggota : 1. Prof. Dr. H. Askandar Tjokroprawiro, dr  
2. Prof. Dr. PG Konthen, dr  
3. Prof. Dr. Handono Kalim, dr  
4. Prof. Atasiati Idajadi, dr  
5. Prof. Retno Laksminingsih, drg, MHPed  
6. Dr. Suhartono Taat Putra, dr, MS  
7. Dr. Widodo J. Pudjirahardjo, dr, MS, MPH

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Rektor Universitas Airlangga  
Nomor : 4408/J03/PP/2000  
Tanggal : 31 Mei 2000

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih  
lagi Maha Penyayang

رَبَّنَا افْرِغْ عَلَيْنَا صَبْرًا وَثَبِّتْ أَقْدَامَنَا  
وَنصُرْنَا عَلَى الْقَوْمِ الْكَافِرِينَ (البقرة: ٢٥٠)

Ya Tuhan kami, limpahkanlah kesabaran atas kami,  
dan tetapkanlah pendirian kami, dan tolonglah kami  
terhadap kaum yang kafir (Al-Baqarah : 250).

سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ  
أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ (البقرة: ٣٢)

Maha Suci Engkau, tidak ada pengetahuan bagi kami  
selain apa yang telah Engkau ajarkan kepada kami.  
Sesungguhnya Engkau lah yang Maha Mengetahui  
lagi Maha Bijaksana (Al-Baqarah : 32)

## UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan segala rendah hati saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia serta petunjukNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih kepada almarhum Prof Dr Noor Rachman, dr, guru besar dalam bidang Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, semoga arwah beliau diterima disisi Tuhan Yang Maha Esa. Beliau sebagai Promotor yang banyak membimbing dalam bidang Mikrobiologi maupun Imunologi.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof Dr H Askandar Tjokroprawiro, dr, yang sebelumnya sebagai Ko-Promotor I, selanjutnya sebagai Promotor yang telah membimbing, memberi dorongan serta semangat sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Terima kasih juga saya sampaikan kepada Prof Dr PG Konthen, dr, selaku Ko-Promotor I yang telah membimbing dan memberi petunjuk dalam penyempurnaan disertasi ini.

Kepada Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS, selaku Ko-Promotor II, saya mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya sebagai pendidik yang sabar, penuh perhatian dan tanggung jawab, telah membimbing saya sejak awal hingga akhir pendidikan Doktor.

Terima kasih yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada Widodo Jatim Pudjirahardjo, dr, MS, MPH, DrPH, sebagai konsultan dalam bidang metodologi, yang telah membimbing saya dengan penuh kesabaran dan perhatian sejak awal sampai selesainya disertasi ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia c.q. Menteri Pendidikan dan Kebudayaan melalui Tim Manajemen Program Doktor yang telah memberikan bantuan dana sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan disertasi ini.

Dengan selesainya disertasi ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga Prof H Soedarto, dr, DTMH, PhD dan Prof H Bambang Rahino Setokoesomo, dr, sebagai mantan Rektor atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan program Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Muh Amin, dr dan mantan Direktur Prof Dr Soediono, dr, beserta staf.

Rektor Universitas Hasanuddin, Prof Dr Radi A Gany, Ir dan mantan Rektor Universitas Hasanuddin, Prof Dr H Basri Hasanuddin, MA, yang telah memberikan izin mengikuti Program Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, Muh Amin Kansi, drg, MS, PhD dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan izin untuk mengikuti Program Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Prof Dr Roemwerdiniadi Soedoko, dr, guru besar Patologi Anatomi, yang telah mendidik dan mendorong serta memberi semangat dalam menyelesaikan disertasi ini.

Prof Atasiati, dr, guru besar Mikrobiologi, yang banyak memberikan masukan dalam hal mikrobiologi dan imunologi dalam penyelesaian disertasi ini.

Prof Retno Laksmningsih, drg, MHPED, yang telah memberikan dorongan dan semangat serta banyak memberikan masukan terutama dari aspek kedokteran gigi.

Prof Dr Handono Kalim, dr, guru besar ilmu penyakit dalam RSSA-Universitas Brawijaya yang telah membimbing dan memberikan masukan dalam penyelesaian disertasi ini.

Prof Dr H Pitono Soeparto, dr, yang telah memberikan masukan dalam penyelesaian disertasi ini.

Dr FM Judajana, dr, yang telah memberikan dorongan dan masukan dalam penyelesaian disertasi ini.

Dr Eddy Bagus Wasito, dr; Dr Hadi Soenartyo, drg, MSc dan Soewarni, drg, yang telah memberikan masukan dalam penyusunan proposal disertasi ini.

Direktur RSUD Dr Soetomo, Prof Muh Dikman Angsar, dr, yang telah memberi izin untuk melakukan penelitian disertasi di Poli Endokrinologi dan Lab Patologi Klinik.

Ibu Saida dan kawan-kawan di Poli Endokrinologi RSUD Dr Soetomo serta Mbak Eti, Ibu Suminah dan Pak Daud di kamar terima Klinik FKG Unair yang telah membantu dalam pengambilan sampel penelitian.

Mbak Tuti, Pak Ketut dan Ibu Siska, bagian Litbang Patologi Klinik RSUD Dr Soetomo Surabaya atas bantuannya dalam pengujian laboratorik imunologi, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.



Mbak Cici, Mbak Lita dan seluruh staf Lab Klinik Prodia Surabaya, yang telah membantu dalam pemeriksaan sampel penelitian ini.

Dr Ketut Sudiana, Drs, MS; Tania Ardiani, Dra, MS; Staf Laboratorium Patologi Anatomi Fak Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah membantu dalam pengecatan dan perhitungan sel untuk penyelesaian penelitian disertasi ini.

Sri Musta'ina, Dra, MKes; Atika, SSi dan seluruh staf Gramik dan staf Seksi/Divisi Patobiologi Lab Patologi Anatomi Fak Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan bantuan sarana dan prasarana untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini.

Moh Kholik, staf Laboratorium Komputasi jurusan Statistik Fak MIPA ITS, yang telah membantu dalam penyajian analisis statistik data penelitian untuk disertasi ini.

Kepada penderita DM di Poli Endokrinologi RSUD Dr Soetomo Surabaya yang telah berpartisipasi sebagai sampel dan penderita sakit gigi di kamar terima Klinik FKG Unair yang telah berpartisipasi sebagai kontrol dalam penelitian ini saya ucapkan terima kasih.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ayah dan Ibunda tercinta H A M Ali Yusuf dan H A Dalima Makkarodda, atas perjuangan dalam membesarkan dan mendidik ke sebelas putra-putrinya dengan penuh kasih sayang dan mendorong untuk mendapatkan pendidikan yang dicita-citakan, serta senantiasa berdo'a kepada Allah SWT.

Terima kasih yang tak terhingga saya sampaikan kepada Bapak dan Ibu Mertua H Makkanyuma dan H Subaeda atas segala perhatian, pengorbanan dan doa restu selama saya menempuh pendidikan di Surabaya.

Suamiku tercinta, Dr Aminuddin SH, MHum dan Anakku tersayang Nurul Mutiah Aminuddin, atas segala pengorbanan, perhatian, pengertian, dorongan dan kesabaran serta doa restu selama saya mengikuti pendidikan doktor.

Kepada semua pihak yang ikut membantu dan mendukung selama masa pendidikan yang belum sempat saya sebutkan saya mengucapkan terima kasih.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati saya sebagai manusia biasa mohon maaf atas segala kekurangan dan kesalahan, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan karuniaNya kepada semua pihak yang telah membantu saya dengan ikhlas dalam menyelesaikan disertasi ini. Amin !

## RINGKASAN

Infeksi *Candida albicans* (*C.albicans*) lebih sering dijumpai dalam rongga mulut penderita Diabetes Mellitus (DM), tetapi mekanisme perubahan ketahanan imunologis yang mendasari kejadian infeksi tersebut sampai saat ini belum diketahui dengan jelas. Hal ini disebabkan karena belum ada kesepakatan tentang peran perubahan respons imun yang berpengaruh terhadap kolonisasi *C.albicans* khususnya pada penderita DM. Sampai saat ini belum banyak informasi perihal faktor dan perubahan respons imun yang terjadi pada infeksi *C.albicans*, karena pada kondisi infeksi tersebut belum menimbulkan manifestasi klinis.

Infeksi *C.albicans* dapat berkembang menjadi penyakit infeksi yang manifes yaitu kandidiasis kemudian menjadi : kandidal leukoplakia yang bersifat praganas dan selanjutnya menjadi karsinoma sel skuamus yang bersifat ganas. Infeksi *C.albicans* biasanya terjadi lokal, tetapi dapat menyebar ke organ viseral yang berakibat fatal.

*Candida albicans* merupakan flora normal yang bersifat patogen oportunistik karena menjadi patogen pada kondisi imunokompromis. Keadaan imunokompromis pada penderita DM dimungkinkan terjadi karena kadar glukosa darah yang tinggi akan bereaksi dengan protein secara non-enzimatik yang akan merubah struktur dan fungsi protein sehingga bersifat imunogen.

Penelitian ini dilakukan dengan maksud dapat mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut pada penderita DM. Bila imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* diketahui, maka terapi dapat lebih akurat karena berdasar pada patogenesis yang jelas.

Untuk itu, maka pada penelitian ini peneliti membandingkan respons imun sistemik dan lokal antara kelompok DM dengan kadar HbA1c yang tinggi dengan infeksi *C.albicans* (A1), DM tanpa infeksi *C.albicans* (A2), Non-DM infeksi *C.albicans* (B1) dan Non-DM tanpa infeksi *C.albicans* (B2).

Adapun hasil yang diperoleh dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Respons Imun Sistemik :

- 1)  $A2 \gg B2$  = Ada perbedaan
- 2)  $A1 \gg A2$  = Tidak ada perbedaan
- 3)  $A1 \gg B1$  = Tidak ada perbedaan
- 4)  $B1 \gg B2$  = Ada perbedaan

2. Respons Imun Lokal :

Tidak ada perbedaan untuk semua kelompok

3. Setelah respons imun sistemik dan lokal digabungkan kemudian dilakukan analisis diskriminan, ternyata diperoleh 3 (tiga) variabel pembeda yang dominan diantara ke empat kelompok penelitian dan digambarkan dalam bentuk pola imunopatobiologis. Berdasarkan pola imunopatobiologis ini diperoleh teori bahwa peran IFN gamma yang diproduksi oleh Th1 meningkatkan *switching* IgM ke IgG yang sangat penting untuk mencegah kejadian infeksi *C.albicans*.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pola imunopatobiologis dapat dipakai untuk mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut pada penderita DM.

## ABSTRACT

*Candida albicans* infection is often found in oral cavity of patients with DM. However, the mechanism of immune response change of the infection remain unclear, due to the disagreement on the role of immune response change that influence the colonization of *C.albicans*, particularly among DM. To date, information on factors and immune response change occurs in *C.albicans* infection remains rare, because in such condition clinical manifestation has not been induced.

*Candida albicans* is a normal flora, which is also an opportunistic pathogen because it becomes a pathogen in immunocompromised condition. Such condition in patients with DM may occur because high blood glucose level will react non-enzimatically with protein, which may change the structure and function of protein, so that it becomes immunogen.

This study was done to disclose the immunopathobiogenesis of oral *C.albicans* infection in patients with DM. If the immunopathobiogenesis of *C.albicans* is recognized, the therapy can be done more accurately because it is based on a clear pathogenesis.

Therefore, in this study systemic and local immune response were compared between DM groups with high HbA1c level with (A1) and without *C.albicans* (A2), and non-DM with (B1) and without *C.albicans* infection (B2).

Result obtained in this study were:

1. Systemic immune response :
  - 1) A2 >< B2 = showed difference
  - 2) A1 >< A2 = showed no difference
  - 3) A1 >< B1 = showed no difference
  - 4) B1 >< B2 = showed difference
2. Local immune response :

No difference for all groups
3. After systemic and local immune responses were combined, discriminant analysis was done. Three predominant differential variables were found among four groups studied and these were described in an immuno-pathobiological pattern. Based on this immunopathobiological pattern, it can be theorized that the role of Th1 produce IFN-gamma increases IgM switching to IgG which is important to prevent the occurrence of *C.albicans* infection.

It can be concluded that immunopathobiological pattern can be used to disclose the immunopathobiogenesis of oral *C.albicans* infection of patients with DM.

*Keywords: immunopathobiogenesis, oral immune mucosal, C.albicans infection, Diabetes Mellitus*

## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
RINGKASAN .....	x
ABSTRACT .....	xii
DAFTAR ISI .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR SINGKATAN .....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xx
Bab 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Tujuan Umum .....	5
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
Bab 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Diabetes Mellitus .....	7
2.1.1 Batasan Diabetes Mellitus .....	7
2.1.2 Epidemiologi Diabetes Mellitus .....	8
2.1.3 Klasifikasi Diabetes Mellitus .....	10
2.1.4 Diagnosis Diabetes Mellitus .....	12
2.1.5 Patofisiologi Diabetes Mellitus .....	13
2.1.6 Diabetes Mellitus dan Infeksi .....	14
2.1.7 Manifestasi Diabetes Mellitus dalam Rongga Mulut .....	15
2.1.8 Diabetes Mellitus dan HbA1c .....	17
a. Batasan HbA1c .....	17
b. Hubungan DM dan HbA1c .....	18
c. Biosintesis HbA1c .....	19
2.1.9 Glikosilasi dan Sistem Imun .....	22
2.2 Infeksi <i>C.albicans</i> .....	24
2.2.1 Batasan Infeksi <i>C.albicans</i> .....	24
2.2.2 Kandidal Leukoplakia .....	24
2.2.3 Karsinoma Sel Skuamosa .....	24
2.2.4 Klasifikasi Kandidiasis .....	25
2.2.5 Manifestasi Klinis Kandidiasis .....	26
2.2.6 Pengertian dan Ciri <i>C.albicans</i> .....	26
a. Pengertian <i>C.albicans</i> .....	26
b. Ciri <i>C.albicans</i> .....	27
2.2.7 Cara Identifikasi <i>C.albicans</i> .....	28
2.2.8 Patogenesis Infeksi <i>C.albicans</i> Rongga Mulut .....	30
2.2.9 Perlekatan <i>C.albicans</i> pada Epitel Mukosa .....	32

2.2.10	Faktor Virulensi <i>C.albicans</i> .....	33
2.2.11	Infeksi <i>C.albicans</i> dan Sistem Imun .....	34
2.3	Sistem Imun .....	35
2.3.1	Batasan Sistem Imun .....	35
2.3.2	Fungsi Sistem Imun .....	36
2.3.3	Sel Immunokompeten .....	37
2.3.4	Pembagian Respons Imun .....	40
2.3.5	Sistem Imun Mukosa .....	41
2.3.6	Prinsip Immunologi Mukosa .....	43
2.3.7	Struktur dan Fungsi MALT .....	43
2.3.8	Keseimbangan Sel Th1 dan Th2 .....	44
2.3.9	Peran Subset Th1 dan Th2 terhadap Respons Imun Mukosa .....	49
2.3.10	Sitokin .....	50
2.3.11	Perubahan Immunopatologis .....	53
<b>Bab 3.</b>	<b>KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	<b>54</b>
3.1	Kerangka Konseptual .....	54
3.2	Hipotesis .....	57
<b>Bab 4.</b>	<b>METODE PENELITIAN</b> .....	<b>58</b>
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian .....	58
4.2	Populasi, Sampel, Sampling dan Besar Sampel .....	58
4.3	Bagan Prosedur Penelitian .....	61
4.4	Unit Analisis .....	62
4.5	Pengukuran Variabel .....	62
4.5.1	Variabel Tergantung .....	62
4.5.2	Variabel Bebas .....	62
4.5.3	Variabel Kendali .....	62
4.6	Batasan Operasional .....	63
4.7	Prosedur Penelitian .....	64
4.7.1	Pertumbuhan <i>C.albicans</i> .....	65
4.7.2	Pemeriksaan HbA1c .....	65
4.7.3	Pemeriksaan Sitokin .....	66
	a. Pemeriksaan Kadar IFN gamma .....	66
	b. Pemeriksaan Kadar IL-10 .....	67
4.7.4	Pemeriksaan Sel Immunokompeten Mukosa Mulut .....	68
4.8	Tempat dan Waktu Penelitian .....	69
4.8.1	Tempat Penelitian .....	69
4.8.2	Waktu Penelitian .....	69
4.9	Analisis Statistik .....	69
<b>Bab 5.</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS</b> .....	<b>70</b>
5.1	Sampel yang Diteliti .....	70
5.2	Uji Normalitas .....	71
5.3	Analisis Respons Imun Sistemik .....	72
5.4	Analisis Respons Imun Mukosa Mulut .....	73
5.5	Pola Immunopatobiologis .....	74

Bab 6. PEMBAHASAN DAN HASIL TEMUAN .....	79
6.1 Pembahasan .....	79
6.2 Hasil Temuan .....	91
Bab 7. SIMPULAN DAN SARAN .....	93
7.1 Simpulan .....	93
7.2 Saran .....	93
DAFTAR PUSTAKA .....	95
LAMPIRAN .....	105



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 : Karakteristik spesies <i>Candida</i> yang biasa dijumpai di Lab Klinik .....	29
Tabel 2.2 : Aktivitas biologis dari IFN .....	47
Tabel 2.3 : Aktivitas biologis dari IL-10 .....	48
Tabel 2.4 : Fungsi dan sifat fenotip sel Th1 dan Th2 manusia .....	49
Tabel 2.5 : Peran subset limfosit Th1 dan Th2 terhadap respons IgA ...	50
Tabel 2.6 : Fungsi biologis sitokin .....	51
Tabel 5.1 : Deskripsi Sampel menurut Kelompok .....	71
Tabel 5.2 : Nilai rerata dan simpang baku setiap variabel pada kelompok DM dan kontrol .....	71
Tabel 5.3 : Uji perbedaan kadar IFN gamma dan IL-10 pada empat kelompok sampel dengan n setiap kelompok = 10 .....	73
Tabel 5.4 : Uji perbedaan jumlah sel imunokompeten mukosa mulut pada empat kelompok sampel dengan n setiap kelompok = 10 .....	74

## DAFTAR GAMBAR

1

	Halaman
Gambar 2.1 : Prakiraan Jumlah Penderita DM .....	9
Gambar 2.2 : Struktur Kimia pembentukan HbA1c .....	18
Gambar 2.3 : Skema Reaksi Glikosilasi .....	20
Gambar 2.4 : Skema Fase Pembentukan AGE .....	21
Gambar 2.5 : Skema Sifat Metabolik AGE .....	22
Gambar 2.6 : Skema Tahap Perlekatan <i>C.albicans</i> sampai terjadinya infeksi .....	33
Gambar 2.7 : Skema Proses Pematangan Sel Imunokompeten .....	37
Gambar 2.8 : Regulasi sel T dan sitokin pada respons sel B pada tempat induksi dan efektor IgA .....	42
Gambar 2.9 : Respons Th1 dan Th2 .....	46
Gambar 3.1 : Skema Kerangka Konseptual Penelitian .....	56
Gambar 4.1 : Bagan Prosedur Penelitian .....	61
Gambar 5.1 : Grafik Rerata setiap Variabel Sistemik dan Lokal pada setiap kelompok .....	72
Gambar 5.2 : Pola Immunopatobiologis pada kelompok penderita DM dan kontrol .....	75
Gambar 5.3 : Koloni <i>C.albicans</i> pada media kultur .....	75
Gambar 5.4 : Gambaran Limfosit .....	76
Gambar 5.5 : Gambaran Sel Plasma .....	76
Gambar 5.6 : Gambaran PMN .....	77
Gambar 5.7 : Gambaran Makrofag .....	77
Gambar 5.8 : Gambaran Monosit .....	78
Gambar 5.9 : Gambaran Eosinofil .....	78

## DAFTAR SINGKATAN

A	=	Kelompok DM HbA1c > 8%
A1	=	Kelompok DM HbA1c > 8% + Infeksi <i>C.albicans</i>
A2	=	Kelompok DM HbA1c > 8% - Infeksi <i>C.albicans</i>
AGE	=	<i>Advanced Glycocyalted End Product</i>
APC	=	<i>Antigen Precenting Cell</i>
B	=	Kelompok Kontrol Non-DM
B1	=	Kelompok Kontrol + Infeksi <i>C.albicans</i>
B2	=	Kelompok Kontrol - Infeksi <i>C.albicans</i>
BALT	=	<i>Bronchus Associated Lymphoid Tissue</i>
CMI	=	<i>Cell Mediated Immunity</i>
<i>C.albicans</i>	=	<i>Candida albicans</i>
CD	=	<i>Cluster of Differentiation</i>
DM	=	Diabetes Mellitus
DMTI	=	Diabetes Mellitus Tergantung Insulin
DMTTI	=	Diabetes Mellitus Tidak Tergantung Insulin
DTH	=	<i>Delayed Type Hypersensitivity</i>
EI	=	<i>Erythema Index</i>
GALT	=	<i>Gut Associated Lymphoid Tissue</i>
G-CSF	=	<i>Granulocyte - Colony Stimulating Factors</i>
GM-CSF	=	<i>Granulocyte Macrophage - Colony Stimulating Factors</i>
HbA1c	=	<i>Glycosylated Haemoglobin</i>
HDL	=	<i>High Density Lipoprotein</i>
IEL	=	<i>Intra Epithelial Lymphocyte</i>
IFN	=	<i>Interferon</i>
IgA	=	<i>Immunoglobulin A</i>
IL	=	<i>Interleukin</i>
LDL	=	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	=	<i>Lamina Propia Lymphocyte</i>
MALT	=	<i>Mucosa Associated Lymphoid Tissue</i>
MHC	=	<i>Major Histocompatibility Complex</i>

MRDM	=	<i>Malnutrition Related Diabetes Mellitus</i>
MØ	=	<i>Macrophage</i>
NALT	=	<i>Nose Associated Lymphoid Tissue</i>
Non-DM	=	<i>Non Diabetes Mellitus</i>
OH	=	<i>Oral Hygiene</i>
OHI	=	<i>Oral Hygiene Index</i>
PP	=	<i>Payer's Patch</i>
PMN	=	<i>Polymorphonuclear</i>
RIA	=	<i>Radio Immuno Assay</i>
sIgA	=	<i>Secretory Immunoglobulin A</i>
Th	=	<i>Lymphocyte T helper</i>
Ts	=	<i>Lymphocyte T supressor</i>
TGF	=	<i>Tumor Growth Factor</i>
TNF	=	<i>Tumor Necroting Factor</i>
VDL	=	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>

## DAFTAR LAMPIRAN c

1. Data Sampel Penelitian
2. Uji Homogenitas
3. Uji Univariat dan Multivariat
4. Uji Diskriminan
5. Formulir Persetujuan
6. Keterangan Kelaikan Etik

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Infeksi *Candida albicans* (*C.albicans*) pada mukosa rongga mulut lebih sering terjadi pada penderita Diabetes Mellitus (DM), tetapi mekanisme penurunan ketahanan tubuh imunologis yang mendasari infeksi tersebut sampai saat ini belum diketahui dengan jelas (Matthews and Burnie, 1992; Plotkin, 1996; Kaposzta, 1998). Hal ini disebabkan karena belum terdapat kesepakatan di antara peneliti tentang berbagai faktor yang berpengaruh terhadap infeksi *C.albicans* dalam rongga mulut khususnya pada penderita DM (Dedic and Masic, 1999). Sampai saat ini belum banyak informasi perihal faktor dan perubahan respons imun yang terjadi pada infeksi *C.albicans*. Hal ini disebabkan karena pada kondisi infeksi tersebut belum menimbulkan manifestasi klinis.

Menurut Thorstensson (1989), faktor yang berpengaruh terhadap kolonisasi *C.albicans* dalam rongga mulut penderita DM adalah : 1). Kadar glukosa saliva yang tinggi; 2). Penurunan flow rate saliva; 3). Penurunan pH saliva. Ali (1992), melaporkan bahwa faktor yang berpengaruh terhadap kejadian infeksi *C.albicans* rongga mulut adalah kadar glukosa darah yang tinggi dan tidak terkontrol. Menurut Abu-Elteen (1998), tingkat infeksi *C.albicans* pada DM meningkat dengan pemakaian protesis, dan peningkatan tersebut juga berhubungan dengan rokok. Selain itu, beberapa laporan menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi antara kadar glukosa darah, glukosa saliva maupun pH saliva dengan jumlah koloni *C.albicans* (Darwazeh, 1991; Harlina, 1994). Hal ini menunjuk-

kan bahwa ada indikator lain selain glukosa darah dalam penentuan regulasi DM, yaitu *glycosylated haemoglobin* (HbA1c) (Kennedy, 1989). Namun sejauh ini perubahan respons imun yang mendasari peningkatan pada infeksi *C.albicans* pada DM belum diketahui.

Infeksi *C.albicans* pada mukosa rongga mulut penderita DM bersifat kronis, bila tidak diatasi dapat berkembang menjadi penyakit infeksi yang manifes. Kondisi ini dapat berlanjut menjadi kandidal leukoplakia yang bersifat praganas dan bahkan menjadi suatu keganasan yaitu karsinoma sel skuamus. Hal ini dimungkinkan karena *C.albicans* mampu menghasilkan bahan yang bersifat karsinogen yaitu *N-nitrosobenzyl-methylamine* (Regezi and Sciubba, 1994). Infeksi *C.albicans* yang manifes juga dapat menyebar ke berbagai organ viseral, misalnya paru, ginjal, hati, jantung dan otak. Penyebaran tersebut melalui aliran darah atau getah bening sehingga infeksi jamur bersifat sistemik dan berakibat fatal (Regezi and Sciubba, 1994; Plotkin, 1996). Selain itu, pengobatan dengan anti jamur, baik topikal maupun sistemik hanya efektif menghilangkan infeksi yang sifatnya sementara, dan tidak dapat mencegah kekambuhan (Fidel, 1995; Darwazeh, 1997). Hal ini terbukti dengan tingkat mortalitas penderita infeksi yang mendapat kemoterapi anti jamur mencapai 70% (Matthews, 1992). Obat anti jamur tersebut bersifat mematikan jamur secara keseluruhan sehingga mengganggu keseimbangan flora normal yang berakibat pada perkembangbiakan mikroorganisme kompetitif. Hal ini disebabkan pengobatan yang tidak tepat sasaran karena pengobatan tersebut belum berdasar pada patogenesis yang jelas sehingga pengobatan belum efektif.

Penelitian tentang infeksi *C.albicans* lebih banyak difokuskan pada penyakit infeksi yang manifes. Hal ini disebabkan karena sampai saat ini pemahaman masih didasarkan pada teori bahwa *C.albicans* merupakan flora normal, dan baru berubah menjadi patogen bila ada gangguan ekosistem mikroorganisma. Perubahan ini yang menyebabkan infeksi dan kandidiasis. Pada penderita DM, perubahan respons imun dimungkinkan terjadi karena kadar glukosa darah yang tinggi akan bereaksi dengan protein secara non-enzimatis menyebabkan glikosilasi meningkat yang ditandai dengan peningkatan kadar HbA1c. Hal ini akan berpengaruh pada struktur dan fungsi protein yang bersifat imunogen (Lyons, 1992; Kennedy, 1994) karena dapat menyebabkan perubahan respons imun. Perubahan respons imun yang terjadi bisa meningkat atau menurun, tetapi perubahan respons imun yang meningkat tidak selalu menguntungkan seperti halnya yang terjadi pada reaksi alergi. Pada penderita DM dicurigai perubahan yang terjadi adalah penurunan respons imun (Lyon, 1992).

Sampai saat ini diketahui bahwa infeksi *C.albicans* mukokutaneus kronis disebabkan adanya gangguan fungsi imunitas seluler atau *Cell Mediated Immunity* (CMI) (Wilton and Lehner, 1981; Nelson, 1991; Challacombe, 1994; Fidel, 1995; Levitz, 1996). Beberapa laporan menunjukkan bahwa hasil dari proses glikosilasi yang tinggi, yaitu *Advanced Glycosylated End Products* (AGE) bersifat imunogenik dan dapat memicu produksi berbagai sitokin, yaitu : IFN-gamma, TNF alfa, TNF beta, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, serta IL-10 (Mencacci, 1993; Suga, 1994; Marohoshi, 1995). Hal ini menunjukkan bahwa sitokin yang terpicu tersebut termasuk kelompok T *helper* 1 (Th1) yang lebih ke arah CMI dan kelompok T *helper* 2 (Th2) yang menurut Romagnani (1997) selain memicu



respons imun humoral juga mempermudah reaksi hipersensitivitas tipe lambat atau *Delayed Type Hypersensitivity* (DTH). Hanninen (1993), melaporkan bahwa perubahan pada respons imun mukosa merupakan indikator terjadinya kelainan sel Beta pankreas pada penderita IDDM = DMTI (Diabetes Mellitus Tergantung Insulin). Oleh karena stabilisasi respons imun ditentukan oleh keseimbangan kadar IFN-gamma dan IL-10 (Hamblin, 1993) dan sitokin berfungsi mengatur fungsi sel yang lain dalam respons imun termasuk inflamasi (Cotran, 1999), maka dengan demikian dapat dikonsepsikan bahwa infeksi *C.albicans* dalam rongga mulut penderita DM dimungkinkan karena terjadi penurunan respons imun yang ditunjukkan oleh penurunan kadar IFN-gamma, IL-10 serum dan respons sel imunokompeten mukosa mulut. Untuk itu maka pemecahan masalah pada penelitian ini berkisar pada perubahan respons imun yang digambarkan oleh penurunan kadar IFN-gamma, IL-10 dan respons sel imunokompeten mukosa rongga mulut penderita DM yang mendasari infeksi *C.albicans*. Untuk itu maka perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan kebenaran deduksi tersebut.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara penderita DM tanpa infeksi *C.albicans* dengan Non-DM tanpa infeksi *C.albicans* rongga mulut ?
2. Apakah ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara penderita DM dan infeksi *C.albicans* dengan DM tanpa infeksi *C.albicans* rongga mulut?

3. Apakah ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara penderita DM dan infeksi *C.albicans* dengan Non-DM dan infeksi *C.albicans* rongga mulut?
4. Apakah ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara Non-DM dan infeksi *C.albicans* dengan Non-DM tanpa infeksi *C.albicans* rongga mulut?
5. Apakah pola imunopatobiologis dapat digunakan untuk mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan umum**

Mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut pada penderita DM.

#### **1.3.2 Tujuan khusus**

1. Membuktikan bahwa ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara DM tanpa infeksi dengan Non-DM tanpa infeksi *C.albicans* rongga mulut.
2. Membuktikan bahwa ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara penderita DM dan infeksi dengan DM tanpa infeksi *C.albicans* rongga mulut.
3. Membuktikan bahwa ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara penderita DM dan infeksi dengan Non-DM dan infeksi *C.albicans* rongga mulut.

4. Membuktikan bahwa ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara Non-DM dan infeksi dengan Non-DM tanpa infeksi *C.albicans* rongga mulut.
5. Membuktikan bahwa pola imunopatobiologis dapat digunakan untuk mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

1. Dari aspek pengembangan ilmu pengetahuan, penelitian ini bermanfaat untuk mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* pada penderita DM yang selama ini belum diketahui dengan jelas. Dari temuan ini diharapkan munculnya konsep baru tentang imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* pada penderita DM.
2. Manfaat dari aspek terapan adalah bahwa bila imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* pada penderita DM diketahui, maka dapat dilakukan pencegahan terhadap infeksi tersebut. Dengan demikian akan ditemukan konsep baru yang berdasar atas imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* pada penderita DM.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Diabetes Mellitus

##### 2.1.1 Batasan Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus adalah suatu gangguan metabolisme karbohidrat yang ditandai dengan hiperglikemia kronik dan kurang efektifnya pemakaian glukosa. Diabetes mellitus terjadi sebagai akibat kekurangan insulin yang bersifat absolut atau relatif karena pengeluaran insulin yang rendah dari pankreas atau menurunnya reaksi jaringan perifer terhadap insulin (Sonis, 1984).

Pengertian lain dari DM adalah suatu penyakit metabolik (kebanyakan hereditas) sebagai akibat dari kurangnya insulin yang efektif (pada Diabetes Mellitus Tidak Tergantung Insulin atau DMTTI atau DM tipe-2) atau berkurangnya insulin absolut (pada Diabetes Mellitus Tergantung Insulin atau DMTI atau DM tipe-1) di dalam tubuh, yang ditandai dengan hiperglikemia dan glukosuria, disertai dengan gejala klinis akut (poliuria, polidipsia dan penurunan berat badan), dan ataupun gejala kronik, atau kadang tanpa gejala, gangguan primer terletak pada metabolisme karbohidrat, dan sekunder pada metabolisme lemak dan protein (Bennett, 1994; Tjokropawiro, 1996). Untuk DMTTI diperkirakan disebabkan oleh dua faktor yaitu, genetik dan lingkungan seperti diet dan latihan fisik. Adapun gen yang diduga sebagai penyebab terjadinya DMTTI disebut gen diabetogenik (Suryohudoyo, 1996).

### 2.1.2 Epidemiologi Diabetes Mellitus

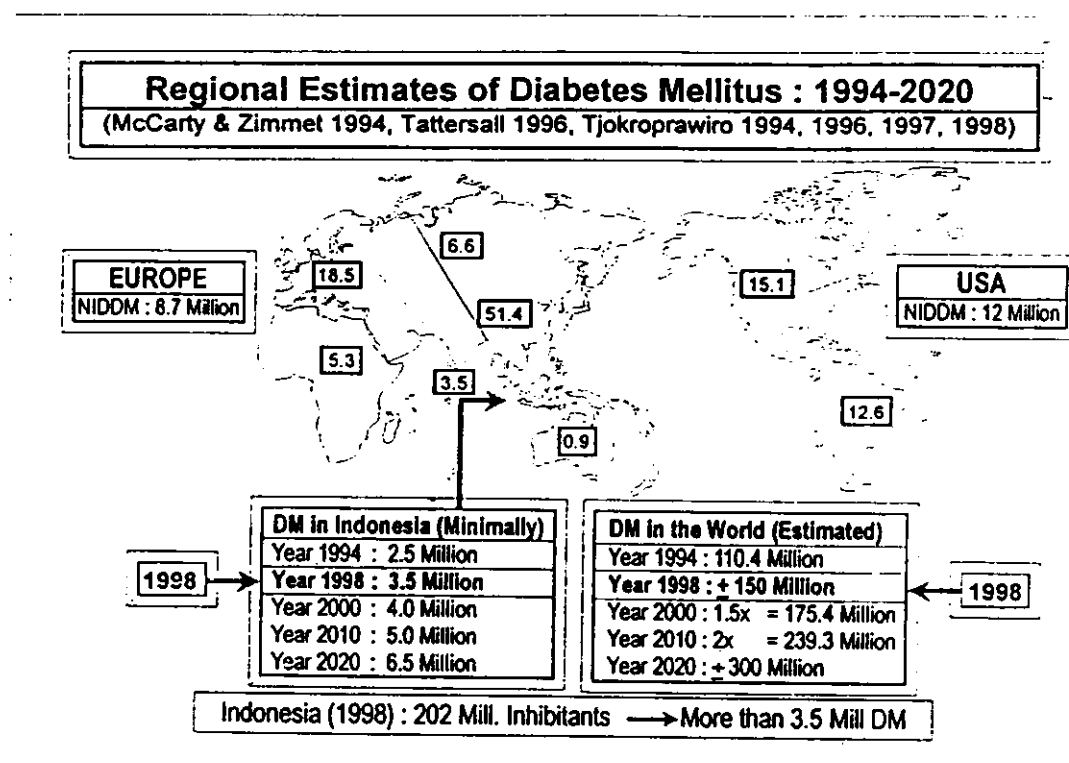
Diabetes mellitus merupakan penyakit kronik yang banyak dijumpai di berbagai negara di dunia. Di Indonesia, berdasarkan hasil analisis dari beberapa pusat kegiatan DM menunjukkan prevalensi DM sekitar 1,5% - 2,3% pada penduduk yang berusia di atas 15 tahun, tetapi angka prevalensi tersebut bervariasi di berbagai daerah hingga mencapai 6,1%. Berdasarkan pola pertumbuhan penduduk pada saat ini, diperkirakan pada tahun 2020 nanti jumlah penderita DM mencapai 178 juta untuk penduduk yang berusia di atas 20 tahun (PERKENI, 1998; Tjokroprawiro, 1999). Untuk propinsi Jawa Timur, laporan hasil penelitian yang dilakukan di pedesaan menunjukkan bahwa dari 16635 sampel yang diperiksa (umur di atas 20 tahun), berdasar pada keadaan gizi didapatkan prevalensi DM rerata 1,47% (1,05% - 2,47%). Sedang untuk Kotamadya Surabaya, prevalensi DM untuk umur 40 tahun ke atas adalah 4,16% dan jumlah penderita DM di Surabaya minimal 30000 (Tjokroprawiro, 1996).

Dari hasil penelitian di Poli Endokrinologi RSUD. Dr. Sutomo Surabaya menunjukkan bahwa insidensi DM semakin meningkat. Sejak tahun 1964 sampai 1995, jumlah penderita DM yang berobat dan terdaftar di RSUD. Dr. Sutomo meningkat menjadi 165 kali lipat (dari 133 menjadi 22029), dengan insidensi pria : wanita = 1 : 1 (Tjokroprawiro, 1997).

Menurut laporan WHO (1987), jumlah penderita DM di dunia  $\pm$  30 juta. Laporan selanjutnya (1993), ternyata jumlah penderita DM di dunia meningkat tajam menjadi 100 juta lebih dengan prevalensi 6%. Laporan terakhir oleh McCarty (1994), jumlah penderita DM di dunia mencapai 110,4 juta, pada tahun

2000 meningkat  $\pm 1,5$  kali ( $\pm 175,4$  juta) dan tahun 2010 meningkat menjadi  $\pm 2$  kali (Tjokroprawiro, 1996).

Adapun prakiraan jumlah penderita DM pada tahun 2020 untuk Indonesia dan beberapa negara lain digambarkan dalam skema sebagai berikut :



Gambar 2.1 Prakiraan jumlah penderita DM pada tahun 2020 di beberapa negara termasuk Indonesia (Tjokroprawiro, 1999)

Kecenderungan meningkatnya penderita DM disebabkan karena adanya perkembangan, misalnya dalam hal industrialisasi, modernisasi, kemakmuran dan peningkatan harapan hidup atau kombinasi dari faktor tersebut di atas (Warram, 1994).

### 2.1.3 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Karena adanya kemajuan penelitian tentang DM, maka pembagian atau klasifikasi sering berubah. Klasifikasi DM yang dipakai oleh Pusat Diabetes Surabaya adalah sesuai dengan klasifikasi yang dianjurkan oleh American Diabetes Association (ADA) 1997 dalam Konsensus pengelolaan DM di Indonesia (PERKENI, 1998) yaitu :

1. Diabetes tipe 1 (destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut) :
  1. otoimun
  2. idiopatik
2. Diabetes tipe 2 (bervariasi mulai yang terutama dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang terutama defek sekresi insulin disertai resistensi insulin).
3. Diabetes tipe lain
  - a. Defek genetik fungsi sel beta :
    1. *Maturity-Onset Diabetes of the Young* (MODY) 1,2,3.
    2. DNA mitokondria
  - b. Defek genetik kerja insulin
  - c. Penyakit eksokrin pankreas
    1. pankreatitis
    2. tumor/pangkreatektomi
    3. pankreatopati fibrokalkulus
  - d. Endokrinopati
    1. akromegali

2. sindroma *Cushing*
  3. feokromositoma
  4. hipertiroidisme
- e. Karena obat atau zat kimia
1. vacor, pentamidin dan asam nikotinat
  2. glukokortikoid, hormon tiroid
  3. tiazid, dilantin, interferon alfa dll.
- f. Infeksi
- Rubella kongenital, Cytomegalovirus (CMV)
- g. Sebab imunologi yang jarang
- antibodi anti insulin
- h. Sindroma genetik lain yang berkaitan dengan DM sindroma *Down*, sindroma *Klinefelter*, sindroma *Turner*, dll.
4. *Diabetes Mellitus Gestational* (DMG)

Pemikiran awal dalam penelitian ini tidak diarahkan pada salah satu kelompok berdasarkan klasifikasi tersebut di atas, dengan pertimbangan bahwa pada diagnosis awal tidak ditetapkan tipe DM. Selain itu penentuan tipe atau klasifikasi DM tidak berdasarkan pada perubahan respons imun, tetapi didasarkan pada kerusakan sel beta, produksi insulin atau etiologi lain. Pertimbangan lain adalah bahwa meskipun DM tipe 1 dikelompokkan sebagai penyakit otoimun, tetapi karena perubahan respon imun pada DM beranjak dari konsep glikosilasi yang meningkat, sehingga perubahan respons imun dapat terjadi pada DM tipe 1 maupun tipe lainnya. Walaupun secara teoritik patofisiologi tipe DM tersebut berbeda, namun demikian dalam perjalanan penelitian ini dimungkinkan sampel



yang diperoleh seluruhnya adalah DM tipe 2, karena merupakan kelompok yang paling banyak ditemukan dalam populasi, yaitu sekitar 85% - 90% dari seluruh kasus DM (Bennett, 1994), bahkan menurut McMahon (1995), 95% penderita DM adalah tipe II.

#### 2.1.4 Diagnosis Diabetes Mellitus

Kriteria diagnosis DM dan Gangguan Toleransi Glukosa (GTG) menurut Pusat DM Surabaya, 1987 dan 1995 (modifikasi kriteria diagnosis DM WHO 1985 dan 1994), dan Konsensus DM PERKENI 1993, dengan ketentuan bahwa darah yang digunakan adalah darah kapiler, metode enzimatik, beban glukosa 75 gram, puasa 10-16 jam (Tjokropawiro, 1996).

1. Diagnosis DM apabila :
  1. Terdapat gejala DM (poliuria, polidipsia, penurunan berat badan) plus
  2. Salah satu dari : GDP > 120 mg/dl, 2j pp > 200 mg/dl, atau Glukosa Darah Random = Acak (GDA) > 200 mg/dl
2. Diagnosis DM apabila
  1. tidak terdapat gejala DM, tetapi
  2. terdapat dua hasil dari : GDP > 120 mg/dl, 2j pp > 200 mg/dl, atau GDA > 200 mg/dl.
3. Diagnosis Gangguan Toleransi Glukosa (GTG) apabila GDP < 120 mg/dl dan 2j pp antara 140 - 200 mg/dl
4. Untuk kasus meragukan dengan hasil GDP < 120 mg/dl dan 2j pp > 200 mg/dl, maka ulangi pemeriksaan sekali lagi, dengan persiapan

minimal 3 hari dengan diit karbohidrat lebih dari 150 gram per hari dengan kegiatan fisik seperti biasa, kemungkinan hasilnya adalah :

1. DM apabila hasilnya sama atau tetap, yaitu GDP > 120 mg/dl dan 2j pp > 200 mg/dl
2. GTG apabila hasilnya sesuai dengan kriteria 3.

Untuk keperluan diagnosis, perlu dilakukan test penyaring DM dan TGT pada kelompok tertentu yaitu :

1. Kelompok usia dewasa tua
2. Kegemukan
3. Tekanan darah tinggi
4. Riwayat keluarga DM
5. Riwayat kehamilan dengan BB lahir bayi > 400 gr
6. Riwayat DM pada kehamilan
7. Dislipidemia

### **2.1.5 Patofisiologi Diabetes Mellitus**

Patofisiologi DMTTI berbeda dengan DMTI. Hal ini disebabkan letak kelainan yang berbeda, pada DMTI letak kelainan hanya pada sel beta, sedang DMTTI kelainan terletak pada beberapa tempat (Weir & Leaby, 1994; Tjokroprawiro, 1996) yaitu :

1. Sekresi insulin oleh pankreas mungkin cukup atau kurang, tetapi terdapat keterlambatan, sehingga glukosa sudah diabsorpsi masuk darah tetapi jumlah insulin yang efektif belum memadai.
2. Jumlah reseptor jaringan perifer kurang

3. Kadang jumlah reseptor cukup, tetapi kualitas reseptor yang jelek, sehingga insulin tidak efektif
4. Terdapat kelainan pada post reseptor, sehingga proses glikolisis intraseluler terganggu
5. Kombinasi kelainan tersebut di atas

### **2.1.6 Diabetes Mellitus dan infeksi**

Infeksi lebih sering terjadi dan mungkin lebih berat pada penderita DM. Infeksi pada penderita DM sebagai hasil komplikasi lebih sering terjadi dibanding dengan individu yang sehat, meskipun derajat dan tempat infeksi yang lebih sering menyebabkan kematian tidak jelas (Deborah, 1994). Kerentanan terhadap infeksi bagi penderita DM terutama disebabkan oleh derajat hiperglikemia. Penderita DM dengan kadar glukosa darah mendekati normal memiliki risiko terhadap infeksi lebih kecil atau bahkan dapat dikatakan tanpa risiko. Sebaliknya bagi penderita DM dengan kadar glukosa darah yang tinggi dan tidak terkontrol menyebabkan meningkatnya risiko terhadap gangguan fungsi netrofil dan kemampuan granulosit dalam hal fagositosis serta mekanisme pertahanan imun lainnya (Chisolm, 1990; McMahan, 1995; Plotkin, 1996).

Beberapa abad yang lalu banyak penderita DM yang meninggal karena infeksi, tetapi setelah diperkenalkannya insulin, maka keadaan tersebut berubah dan saat ini penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab utama kematian penderita DM. Namun demikian infeksi pada penderita DM masih merupakan bahaya yang serius. Hal ini disebabkan karena WHO telah mengklasifikasikan DM sebagai penyakit imunodefisiensi sekunder yang problem utamanya adalah infeksi yang berlangsung lama dan berulang atau rekuren (Pozzilli and Leslie, 1994).

Meningkatnya risiko infeksi pada penderita DM disebabkan oleh beberapa faktor predisposisi sebagai berikut :

1. Genetik yang rentan terhadap infeksi
2. Perubahan mekanisme respons imun baik seluler maupun humoral
3. Faktor lokal termasuk kurangnya suplai darah dan kerusakan saraf akibat angiopati
4. Perubahan metabolisme yang berhubungan dengan DM.

### **2.1.7 Manifestasi Diabetes Mellitus dalam rongga mulut**

Diabetes Mellitus sebagai suatu kelainan akibat gangguan metabolisme karbohidrat menggambarkan manifestasi yang heterogen termasuk komplikasinya. Salah satu dari komplikasi DM adalah angiopati, yaitu kelainan pada pembuluh darah, baik pembuluh darah besar (makroangiopati) maupun pada pembuluh darah kecil (mikroangiopati) (Murrell, 1985; Tjokroprawiro, 1987; Sentochnick and Eliopoulus, 1994).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa komplikasi DM berupa mikroangiopati berkorelasi positif dengan penebalan membran basalis (Murrell, 1985). Kadar glukosa darah yang tinggi pada penderita DM menyebabkan perubahan pada endotel yang memudahkan terjadinya kebocoran, dan dengan meningkatnya glikosilasi protein akan mempermudah terjadinya adesi dan agregasi trombosit. Hal ini akan menyebabkan terbentuknya plak aterosklerosis disertai dengan timbulnya ateroma, sehingga lumen pembuluh darah menjadi lebih sempit. Akibatnya terjadi gangguan oksigenasi dan penyumbatan pada pembuluh darah jaringan, sehingga terjadi hipoksia jaringan (Tjokroprawiro, 1987).

Perubahan morfologi pembuluh darah berupa penebalan membran dan terganggunya ikatan O<sub>2</sub> pada eritrosit merupakan hambatan bagi fungsi biologis, menyangkut perfusi jaringan, pembuangan sampah metabolik, migrasi sel leukosit dan difusi faktor imunologi, sehingga kemampuan regenerasi jaringan menurun (Tjokroprawiro, 1987). Menurut Streckfus (1994), hiperglikemia menyebabkan jumlah protein saliva menurun akibat adanya jalur biokimia lain sebagai kompensasi terhadap gangguan toleransi glukosa.

Pada penderita DM dijumpai berbagai perubahan patologik dalam rongga mulut, tetapi mekanisme terjadinya perubahan tersebut belum diketahui dengan jelas. Perubahan ini merupakan manifestasi oral DM yang telah dikemukakan oleh beberapa penulis (Jones & Mason, 1980; Lynch, 1984; Murrach, 1985; Tjokroprawiro, 1996) sebagai berikut :

1. Mulut terasa kering dan haus (*serostomia*)
2. Membran mukosa berwarna merah tua dan kadang disertai rasa terbakar
3. Gigi-geligi goyang (*periodontitis*) yang dapat disertai *periodontal abses*
4. Gusi mudah berdarah meskipun dengan rangsangan yang ringan, bengkak, hilangnya perlekatan gusi dan sering disertai *gingivitis kronis*
5. Lebih sering terjadi karang gigi
6. Lidah dapat membesar, meradang dan bercelah (*fissure*)
7. Sering terjadi *dry socket*
8. Resorpsi tulang alveolar

9. Frekuensi karies meningkat
10. Nafas penderita berbau aseton
11. Peningkatan kuantitas jamur *C.albicans* dan infeksiunya

## 2.1.8 Diabetes Mellitus dan HbA1c

### a. Batasan HbA1c

Pada orang dewasa normal Haemoglobin (Hb) yang utama disebut HbA, selain HbA terdapat pula Hb utama (mayor) yaitu HbA1 dan Hb pendamping (minor) yaitu HbA2 yang jumlahnya  $\pm 2\%$ . HbF terdapat pada neonatus, namun pada manusia dewasa normal HbF masih ditemukan dalam jumlah yang sangat kecil yaitu kurang dari 1%. HbA tersebut akan bereaksi dengan glukosa atau karbohidrat lain dan membentuk Hb terglukosilasi yaitu HbA1, yang merupakan Hb terbanyak ( $> 90\%$ ) pada orang dewasa (Kennedy, 1989).

Ada 3 macam subklas HbA1 yaitu :

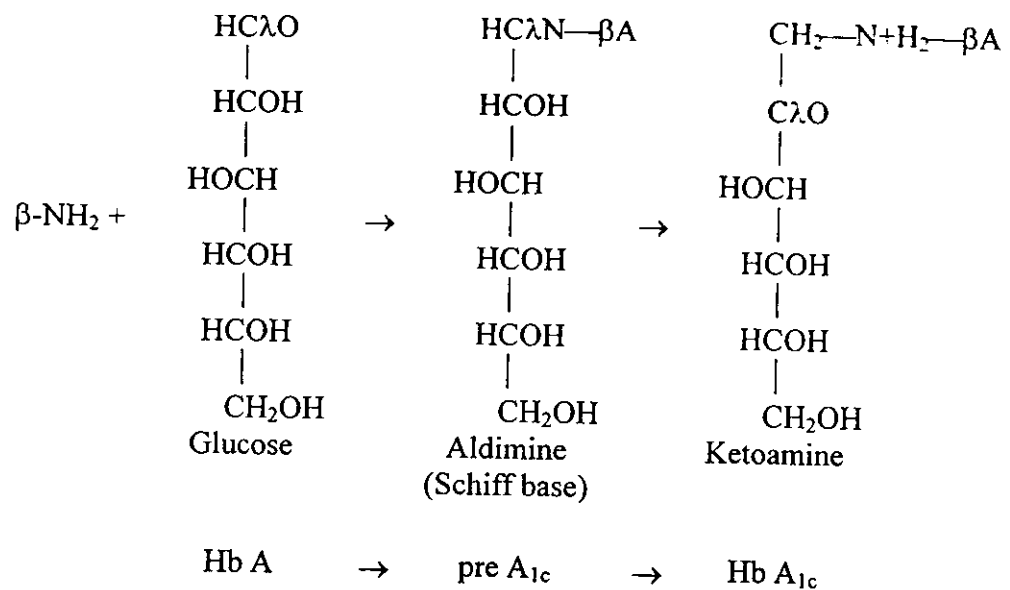
1. HbA1a (Hb + heksosamonofosfat)
2. HbA1b (Hb + belum diketahui)
3. HbA1c (Hb + glukosa)

Haemoglobin A1c (HbA1c) merupakan subklas yang paling penting karena jumlahnya mencapai 70% dari jumlah HbA1 (Kennedy, 1989).

Pembentukan HbA1c melalui 2 tahap yaitu :

1. Pembentukan *Schiff base* yang bersifat labil dan *reversible*
2. Pembentukan ketoamin yang *irreversible*

Adapun struktur kimia pembentukan HbA1c digambarkan dalam skema sebagai berikut :



Gambar 2.2 Struktur Kimia Pembentukan HbA<sub>1c</sub> (Kennedy, 1989)

Haemoglobin A<sub>1c</sub> atau *Glycosylated haemoglobin* atau disingkat glikohaemoglobin adalah Hb yang mengalami glikosilasi (HbA<sub>1</sub>) yang berikatan dengan glukosa. Oleh karena glikohaemoglobin merupakan hasil ikatan dengan glukosa, maka erat kaitannya dengan DM, sehingga digunakan sebagai suatu indeks atau parameter yang digunakan untuk mengetahui status DM penderita, karena mempunyai korelasi yang sangat baik dengan glukosa darah sepanjang hidup eritrosit ( $\pm$  120 hari), dan pembentukannya berjalan lambat untuk mencapai konsentrasi tertinggi ( $\pm$  60 hari).

#### b. Hubungan diabetes mellitus dan HbA<sub>1c</sub>

Hubungan antara DM dan HbA<sub>1c</sub> yang meningkat terjadi karena proses glikosilasi yang meningkat. Hal ini pertama kali dilaporkan oleh Huisman & Dozy (1962), yang menemukan adanya peningkatan kadar HbA<sub>1c</sub> pada penderita DM dua sampai tiga kali kadar normal

(kadar normal = 3 - 6%) tergantung derajat hiperglikemia (Kennedy, 1989). Selain itu kadar HbA1c tidak dipengaruhi oleh umur penderita, lama penyakit, berat badan, glukosa darah sesaat, penebalan membran basalis, makanan yang baru dimakan, latihan fisik, maupun obat hipoglikemik oral (Kennedy, 1989). Berdasarkan sifat tersebut, maka HbA1c dapat berfungsi sebagai :

1. Tes yang potensial untuk diagnosis DM
2. Indeks dari status DM, yaitu dengan mengetahui kadar HbA1c dapat diketahui kadar darah rerata
3. Model untuk mempelajari kelainan yang terjadi pada DM yang tidak terkontrol dalam jangka waktu yang lama
4. Indikator untuk memonitor metabolisme karbohidrat dan insulin.

Interpretasi pengendalian DM dapat diketahui menurut kriteria kadar HbA1c. Di Indonesia kadar HbA1c didasarkan pada hasil Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus Di Indonesia (1998) sebagai berikut:

- 4 - 6% pengendalian baik
- 6 - 8% pengendalian sedang
- > 8% pengendalian buruk

#### c. Biosintesis HbA1c

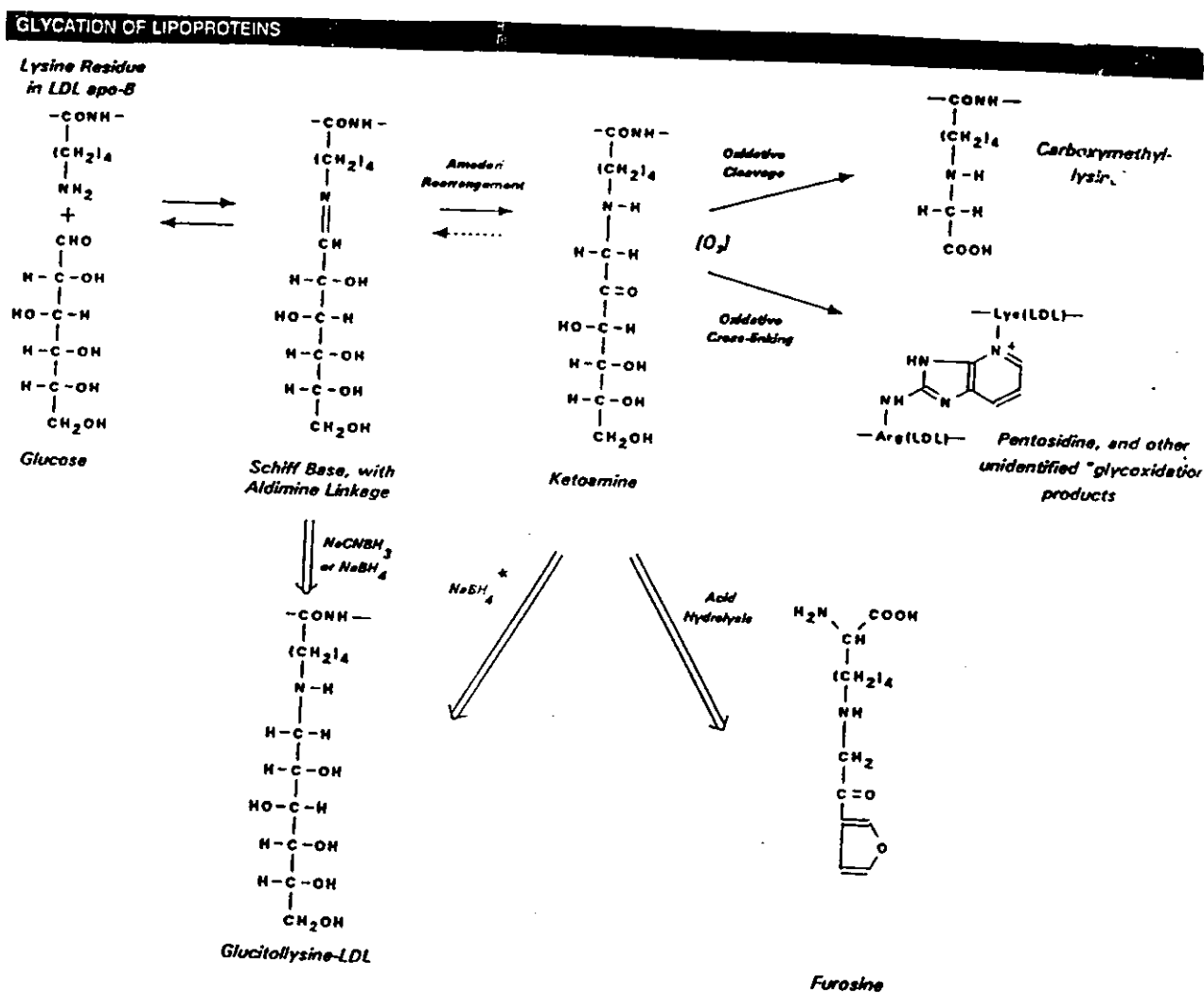
Umumnya protein setelah bereaksi dengan karbohidrat terutama glukosa, akan mengalami perubahan sifat, baik sifat fisik maupun sifat kimia. Bila reaksi yang terjadi tersebut berjalan dengan bantuan enzim, maka proses ini disebut *post translational glycosylation*.

Sebaliknya, terdapat beberapa jenis protein dapat bereaksi dengan



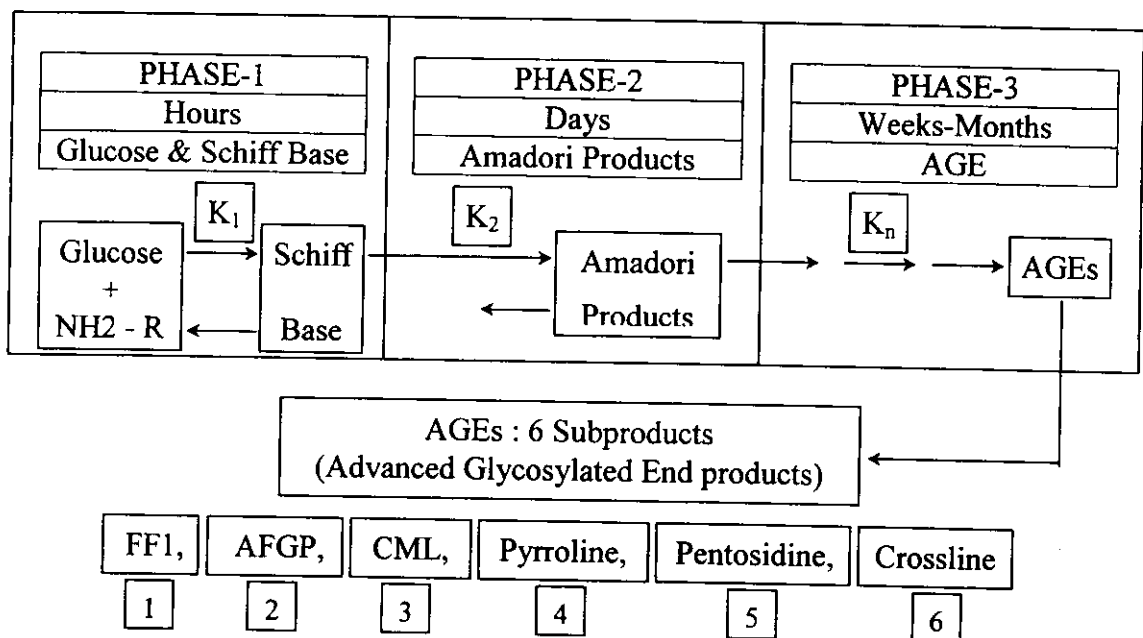
glukosa tanpa bantuan enzim (glikosilasi non-enzimatis). Glikosilasi non-enzimatis yang terjadi DM adalah ikatan antara molekul protein pada rantai lisin dan sisa amino N-terminal dengan kadar glukosa yang tinggi, sehingga meningkatkan glikosilasi dan menyebabkan perubahan struktur dan fungsi protein (Lyons, 1992; Basta, 1996).

Reaksi proses glikosilasi yang meningkat dapat digambarkan dalam skema sebagai berikut :



Gambar 2.3 Skema Reaksi Glikosilasi (Lyons, 1992)

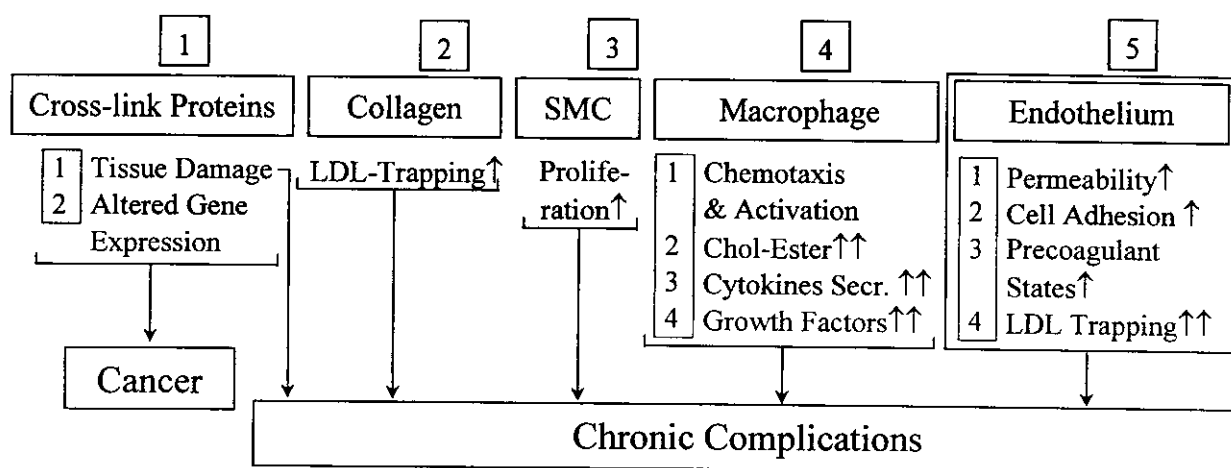
Hasil proses glikosilasi yang tinggi ini akan membentuk reaksi kovalen secara spontan yaitu *Advance Glycoylation End Product (AGE)* sebagai reaksi biokimia abnormal yang terjadi pada DM (Basta, 1996). Pembentukan AGE pada dasarnya melalui tiga tahap dan berjalan lambat sesuai dengan waktu paruh protein, dan akan mencapai keseimbangan dalam beberapa minggu (Tjokroprawiro, 1997) sehingga pembentukannya dapat dicegah melalui penurunan kadar glukosa darah yang cepat. Adapun fase pembentukan AGE digambarkan dalam skema sebagai berikut (Tjokroprawiro, 1997) :



Gambar 2.4 Skema Fase Pembentukan AGE (Tjokroprawiro, 1997)

Peningkatan glikosilasi menyebabkan perubahan struktur protein yang pada akhirnya akan mengganggu fungsi protein, misalnya efek pada aksi enzim, afinitas reseptor ligand atau tingkat katabolisme protein. Peningkatan glikosilasi juga merupakan predisposisi kerusakan oksidasi protein dan menyebabkan gangguan fungsi oksidasi. Baik

pengaruh glikosilasi maupun oksidasi dapat menyebabkan protein bersifat imunogenik (Lyons, 1992; Kennedy, 1994). Hal ini disebabkan karena AGE yang terbentuk akan bereaksi dengan semua jenis protein dalam tubuh termasuk reseptor makrofag dan reseptor AGE pada endotel sehingga merupakan faktor penting dalam perkembangan komplikasi DM, karena AGE memiliki sifat metabolik seperti yang digambarkan dalam skema sebagai berikut :



Gambar 2.5 Skema Sifat Metabolik AGE (Tjokroprawiro, 1997)

### 2.1.9 Glikosilasi dan sistem imun

Hasil dari proses glikosilasi yang tinggi dapat merubah struktur dan fungsi protein yang memungkinkan berperan sebagai imunogen. Menurut Curtiss & Witztum (1991), potensi imunogen tersebut tergantung pada besar kecilnya modifikasi partikel, sehingga mampu merangsang pembentukan antibodi. Hal ini disebabkan karena reduksi karbohidrat dari Schiff base akan menghasilkan *glucitol-lysin* yang merupakan bagian penting dari epitop. Perbedaan modifikasi apolipoprotein termasuk *High Density Lipoprotein* (HDL), *Low Density Lipoprotein*

(LDL), maupun *Very Low Density Lipoprotein* (VDL) akan menyebabkan perbedaan respons antibodi yang pada akhirnya menghasilkan epitop yang berbeda.

Hal ini berhubungan dengan potensi imunogen atau imunopotensi dari epitop, misalnya pada LDL dalam plasma, AGE akan mengalami reaksi oksidatif untuk membentuk LDL yang teroksidasi (Basta, 1996). Modifikasi glikosilasi yang lebih besar, mungkin terdapat pada dinding pembuluh darah dan lebih potensial sebagai imunogen dibanding dengan glikosilasi yang modifikasinya lebih kecil yang terdapat dalam plasma, sehingga merangsang imun kompleks aterogenik setempat (Lyons, 1992). Hal ini juga dipengaruhi oleh faktor genetik (imunogenetik) termasuk tipe HLA (Ardawi, 1994). Di sisi lain, glikosilasi yang tinggi menurunkan afinitas antibodi dan dapat memisahkan kompleks antigen-antibodi (Kennedy, 1994).

Glikosilasi yang tinggi secara invitro dapat mengganggu regulasi produksi IL-6 dan peningkatan fibrinogen dalam darah (Morohoshi, 1995) dan merangsang makrofag untuk mensekresi TNF dan IL-1 serta peningkatan radikal bebas melalui produksi glikosilasi yang lebih awal (Suga, 1994), tetapi makrofag pada DM mempunyai kelainan pada aktivitasnya sebagai APC (Faustman, 1991). Glikosilasi yang tinggi juga dapat memicu produksi sejumlah sitokin antara lain : INF-gamma, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 dan IL-10 (Mencacci, 1993), serta menambah heterogenitas dan fungsi signal sitokin (Opdenakker, 1995). Hal ini juga dipengaruhi oleh faktor genetik (imunogenetik) termasuk tipe HLA (Ardawi, 1994). Menurut Rabinovitch (1999) sitokin merupakan proinflamatori yang merangsang gangguan fungsi sel beta yang berperan sebagai mediator terjadinya kematian sel beta pankreas melalui apoptosis.

## 2.2 Infeksi *C. albicans*

### 2.2.1 Batasan infeksi *C. albicans*

Infeksi *C. albicans* adalah keberadaan *C. albicans*, yang pada keadaan lanjut mengakibatkan infeksi *C. albicans*. Infeksi ini merupakan subinfeksi dan bersifat primer ataupun sekunder serta tanpa gejala klinis (Bergman, 1996). Penyakit infeksi *C. albicans* atau kandidiasis atau kandidosis adalah infeksi *C. albicans*, yang biasanya disertai dengan gejala klinis termasuk bentuk *hyphae* (Rippon, 1974; Allen, 1991; Roitt, 1996; Fongsmut, 1998). Penyakit infeksi ini merupakan perkembangan lebih lanjut dari infeksi *C. albicans* dan memiliki beberapa nama lain yang diberikan berdasarkan lokasi infeksi yaitu : *thrush*, dermatokandidiasis, bronkhomikosis, mikotik vulvovaginitis, *muguet* dan moniliasis, dengan manifestasi klinik yang bervariasi dari akut, subakut dan kronik (Rippon, 1974; Mikat, 1981).

### 2.2.2 Kandidal leukoplakia

Penyakit infeksi *C. albicans* dapat berkembang menjadi kandidal leukoplakia yaitu suatu leukoplakia, adalah bercak putih yang sulit dibedakan dengan lesi lain, tetapi disertai dengan infeksi *C. albicans*. Kandidal leukoplakia disebut juga kandidiasis hiperplastik kronis, karena terjadi hiperplasi epitel. Pada tahap ini terapi anti jamur tidak efektif lagi karena infeksi tetap ada dan akan berkembang menjadi karsinoma (Haskell, 1991; Regezi, 1994).

### 2.2.3 Karsinoma sel skuamosa

Karsinoma sel skuamosa adalah salah satu jenis karsinoma yang paling sering dijumpai yaitu sekitar 82% - 97% dari seluruh karsinoma rongga mulut

(Van Der Wall, 1986). Karsinoma ini merupakan perkembangan lebih lanjut dari kandidal leukoplakia.

Kandidal leukoplakia mempunyai kecenderungan untuk berkembang menjadi ganas, bahkan pada tahap awal, hasil biopsi sudah menunjukkan displasia epitel maupun karsinoma (Haskell, 1991; Regezi, 1994).

#### 2.2.4 Klasifikasi kandidiasis

Klasifikasi infeksi *C.albicans* yang dimaksud adalah klasifikasi penyakit infeksi atau kandidiasis rongga mulut, dan diklasifikasikan berdasarkan manifestasi klinik sebagai berikut (Wilton, 1981; Regezi, 1994; Budtz-Jorgensen, 1996):

1. Akut pseudomembranous atau *thrush* merupakan bentuk kandidiasis yang sering ditemukan pada individu dengan sistem imun yang tidak berfungsi secara optimal, misalnya pada bayi, lansia, pasien yang mendapatkan pengobatan steroid dan penderita AIDS.
2. Akut atrofik, biasanya terjadi pada penderita yang mendapat terapi tetrasiklin sehingga populasi bakteri tandingan menurun sehingga memungkinkan pertumbuhan jamur.
3. Kronik atrofik atau *denture stomatitis*
4. Kronik hiperplastik atau kandidal leukoplakia

Penelitian ini tidak termasuk dalam salah satu jenis infeksi berdasarkan klasifikasi tersebut di atas, meskipun infeksi *C.albicans* pada DM umumnya bersifat kronik, namun sampai saat ini belum tergolong dalam klasifikasi yang lebih khusus. Selain itu, mengingat kurangnya jumlah kasus infeksi yang manifes

maka hanya diamati ada tidaknya pertumbuhan serta infeksi *C.albicans* pada media pembedahan.

### 2.2.5 Manifestasi klinis kandidiasis

Diagnosis infeksi *C.albicans* ditegakkan berdasarkan gambaran klinis sebagai berikut (Samaranayake, 1990; Budtz-Jorgensen, 1996) :

1. Bercak putih (*white plaques*) atau eritema yang meluas.
2. Kultur candida positif.
3. Terdapat miselium pada pemeriksaan kerokan dari lesi.
4. Terdapat bentuk *hyphae* pada epitel dari pemeriksaan biopsi.
5. Perubahan histologik yang khas.
6. Peningkatan titer antibodi terhadap candida dalam serum dan saliva.



Infeksi *C.albicans* tidak selalu tampak secara klinis. Menurut Willis (1999), sekitar 40% penderita DM karier *C.albicans* tanpa gejala klinis. Penelitian yang dilakukan oleh Rodu (1988), pada penderita kanker dengan infeksi *C.albicans* akut, menunjukkan bentuk *pseudohyphae* pada smear mukosa tanpa gejala klinis. Keberadaan bentuk *pseudohyphae* pada smear saliva menunjukkan indikator awal berkembangnya infeksi akut di rongga mulut (Bergmann, 1996).

### 2.2.6 Pengertian dan ciri *C.albicans*

#### a. Pengertian

*Candida albicans* adalah jamur yang berbentuk bulat, agak lonjong dan berwarna putih, juga disebut *Oidium albicans*. Kemudian nama *Oidium* berubah menjadi Monila karena dianggap lebih sesuai dengan spora jamur yang tampak seperti kalung atau *monile* (Emmons, 1970).

*Candida* merupakan genus yang termasuk dalam keluarga *Cryptococcaceae*. Genus ini mempunyai sebelas spesies yaitu : *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.pseudotropicalis*, *C.stellatoidea*, *C.crusei*, *C.parapsilosis*, *C.guilliermondii*, *C.glabrata*, *C.zeilandoides*, *C.pelli-culosa* dan *C.lipolitica*.

Menurut **Emmons (1970)**, hanya 7 spesies *candida* yang ditemukan pada manusia, terutama di rongga mulut, saluran pencernaan dan vagina yaitu : *C.albicans*, *C.stellatoidea*, *C.tropicalis*, *C.pseudotropicalis*, *C.crusei*, *C.parapsilosis*, dan *C.guilliermondii*. Tetapi spesies yang paling patogen adalah *C.albicans* karena merupakan spesies yang paling banyak ditemukan pada permukaan mukosa dan paling sering menyebabkan infeksi (**Regezi dan Sciubba, 1994; Ley Yu, 1995**).

#### b. Ciri *C.albicans*

*Candida albicans* adalah jamur yang dimorfik, karena mempunyai dua bentuk morfologi (**Rippon, 1974; Dabrowa & Howard, 1984; Matthews, 1992**) yaitu:

1. *Yeast* atau *yeast-like*, terlihat sebagai kumpulan sel berbentuk bulat atau oval dengan diameter antara 1,5 - 5  $\mu\text{m}$  dan panjang 3 sampai 14  $\mu\text{m}$ . Sel tersebut melekat pada *pseudomycelium* dalam kelompok kecil dan disebut blastospora.
2. *Mycelium*, sel yang membentuk ekor yang panjang pada pembiakan serum manusia atau hewan. Bentuk ini terlihat sebagai tonjolan yang akhirnya akan membentuk sekumpulan *pseudomycelium*.



### 2.2.7 Cara identifikasi *C.albicans*

*Candida albicans* dapat diidentifikasi untuk membedakan dengan spesies *Candida* lainnya melalui 4 cara (Dolby, 1975) yaitu :

1. Terbentuknya *germ-tubes* bila dibiakkan dalam serum darah manusia atau hewan selama 2 jam pada suhu 37° C.
2. Terbentuknya *chlamydospores* bila dibiakkan pada media yang kurang nilai nutrisinya seperti *corn meal agar*.
3. Satelit fenomena, pada Eosin Metilen Blue (EMB) agar.
4. Dengan reaksi fermentasi gula.

Dalam penelitian ini tidak lagi dilakukan identifikasi *C.albicans*, oleh karena berdasarkan hasil penelitian sebelumnya ternyata seluruh sampel yang dideteksi adalah spesies *C.albicans* yang diidentifikasi melalui pembentukan *germ-tube* (Harlina, 1994). Hal ini didukung oleh hasil penelitian lain yang menunjukkan bahwa 83,1% infeksi *Candida* dalam rongga mulut penderita DM disebabkan oleh spesies *C.albicans* (Fongsmut, 1998). Willis (1999), juga melaporkan bahwa dari 414 penderita DM yang mendapat terapi insulin, 77% diantaranya terdapat *Candida* dalam rongga mulut dan spesies yang paling dominan adalah *C.albicans*. Demikian juga yang dilaporkan oleh Williams (1996), identifikasi *C.albicans* melalui *sequencing* ribosomal DNA (rDNA) menunjukkan bahwa dari 18 spesies *candida* yang diidentifikasi, 12 diantaranya adalah *C.albicans*.

Selain cara identifikasi tersebut di atas, terdapat beberapa karakteristik yang digunakan di laboratorium klinik untuk membedakan spesies *Candida* seperti yang tampak dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 2.1 Karakteristik Spesies *Candida* Yang Biasa Dijumpai di Laboratorium Klinik (Larone, 1993)

Organism	Microscopic Morphology on Cornmeal-Tween 80 agar at 25°C	Growth			Germ tubes
		In Sabouraud broth	With cycloheximide at 25°C	On SDA at 37°C	
<i>C. albicans</i>	Pseudohyphae with terminal Chlamydoconidia: clusters of blastoconidia at septa	NSG	+		+
<i>C. stellatoidea</i>			0	+	
<i>C. tropicalis</i> *	Blastoconidia anywhere along pseudohyphae	Narrow surface film with bubbles	0		0
<i>C. parapsilosis</i>	Blastoconidia along curved pseudohyphae: giant mycelial cells	NSG	0	+	0
<i>C. lusitanae</i>	Short chains of elongate blastoconidia along curved pseudohyphae	NSG	0	+	0
<i>C. guilliermondi</i>	Fairly short, fine pseudohyphae: cluster of blastoconidia at septa	NSG	+	+	0
<i>C. pseudotropicalis</i>	Elongated blastoconidia resembling "logs in a stream" along pseudohyphae	NSG	+	+	0
<i>C. krusei</i>	Pseudohyphae with cross matchsticks or treelike blastoconidia	Wide surface film up side of tube	0	+	0

Abbreviations: SDA = Sabouraud dextrose agar; + = positive; 0 = negative; W = reaction may be weak; V = strain variation; R = rarely occurs; NSG = no surface growth

\*Fermentation is demonstrated by the production of gas (acid does not indicate fermentation)

\**Candida paratropicalis* differs from *C. tropicalis* by not fermenting sucrose and melizitose not assimilating arabinose, and having variable ability to assimilate methyl-o-glucoside, sucrose and melizitose.

### 2.2.8 Patogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut

*Candida albicans* merupakan organisme komensal dalam rongga mulut, saluran pencernaan dan vagina orang sehat. Perubahan status *C.albicans* dari komensal menjadi patogen berhubungan dengan faktor lokal dan sistemik yang sangat sulit dijelaskan secara eksperimen, karena patogenesis terjadinya kandidiasis adalah kompleks termasuk imunitas (McCarthy, 1992; Regezi and Sciubba, 1994; Challacombe, 1994; Willis, 1999). Kompleksnya imunitas terhadap infeksi *C.albicans* disebabkan karena adanya perbedaan dalam hal :

1. Tipe infeksi, yaitu akut atau kronik
2. Bentuk *C.albicans* yaitu *yeast* atau *hyphae*
3. Hubungannya dengan sistem imun mukosa
4. Hubungannya dengan sistem imun sistemik

Keberadaan organisme *C.albicans* sebagai komensal dalam rongga mulut dan vagina merupakan simbiotik yang berpasangan dengan *Lactobacillus*, karena *C.albicans* mempunyai patogenesitas yang rendah kecuali jika didukung oleh faktor lokal dan sistemik yang menguntungkan sebagai faktor predisposisi (Regezi dan Sciubba, 1994).

Beberapa faktor predisposisi terhadap perkembangan infeksi *C.albicans* adalah sebagai berikut (Budtz-Jorgensen, 1990; Regezi dan Sciubba, 1994; Budtz-Jorgensen, 1996) :

1. Faktor sistemik
  1. Fisiologik, misalnya : Usia lanjut, kehamilan, setelah melahirkan
  2. Kelainan endokrin, yaitu : Diabetes mellitus, hipotiroidisme
  3. Defisiensi nutrisi, misalnya : Zat besi, asam folat atau vitamin B12

4. Keganasan, misalnya : Leukemia akut, agranulositosis
  5. Perubahan sistem imun, immunosupresi, AIDS, aplasia timus, kortikosteroid
  6. Antibiotik spektrum luas
2. Faktor lokal
    1. Serostomia : Sindroma Sjogren, radiasi, terapi dengan obat
    2. Leukoplakia, kanker rongga mulut
    3. Protesis
    4. Merokok
    5. *Oral Hygiene*
    6. Pemakaian alat kontrasepsi
    7. Perubahan pada epitel : atrofi, hiperplasia, displasia

*Candida albicans* bersifat patogen oportunistik, karena memanfaatkan situasi yang menguntungkan untuk perkembangannya sebagai faktor predisposisi. Diabetes Mellitus sebagai salah satu faktor predisposisi patogenesis *C.albicans* khususnya dalam rongga mulut, dimungkinkan karena pada penderita DM terjadi berbagai perubahan dalam rongga mulut sebagai komplikasi DM yang memungkinkan untuk pertumbuhannya termasuk perubahan dalam saliva sebagai faktor lingkungan, meliputi : penurunan kecepatan aliran (*flow rate*) dan pH saliva, sehingga konsistensi saliva menjadi lebih pekat dan menyebabkan serostomia, peningkatan kadar glukosa saliva, dan sebagainya (Murray, 1985; Darwazeh, 1991). Sedang perubahan pada mukosa sebagai faktor *host* dimungkinkan karena perubahan respons imun yaitu karena penurunan atau tidak efektifnya sIgA pada permukaan mukosa, sehingga tidak dapat mencegah perlekatan *C.albicans* yang memungkinkan terjadinya invasi.

### 2.2.9 Perlekatan *C.albicans* pada epitel mukosa

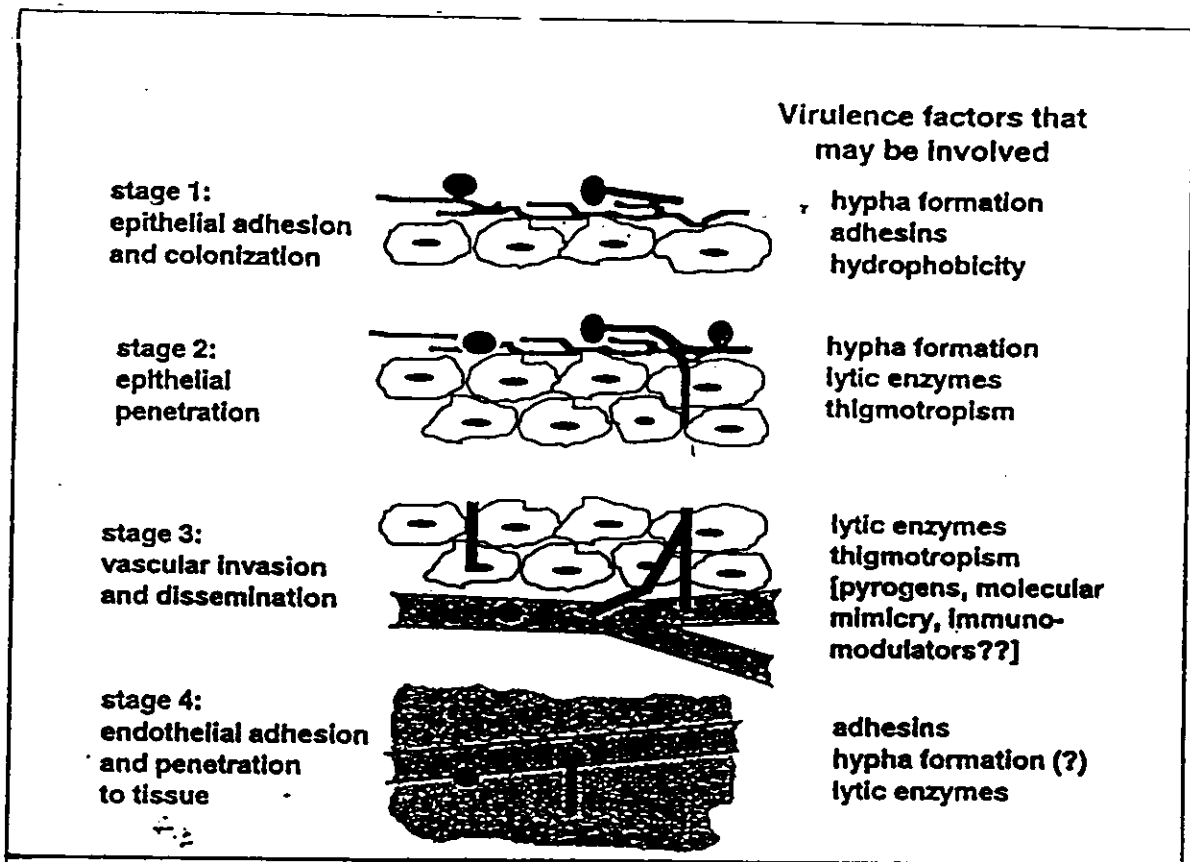
Perlekatan *C.albicans* pada sel epitel mukosa merupakan tahap awal yang paling penting untuk terjadinya kolonisasi dan infeksi (Budtz-Jorgensen, 1990; Olsen, 1990; Lei Yu, 1994; Bailey, 1995; Umazume, 1995).

Perlekatan *C.albicans* umumnya terjadi pada epitel skuamus berlapis dengan derajat keratinisasi yang bervariasi termasuk rongga mulut (Odds, 1994).

Perlekatan *C.albicans* pada epitel dipengaruhi oleh berbagai faktor (Budtz-Jorgensen, 1990; Olsen, 1990; Schroeder, 1991) sebagai berikut :

1. Faktor yang berhubungan dengan sel *C.albicans* yaitu : Medium atau pembiakan, Fenotip, Bentuk germ tube atau hyphae, Bahan polimer ekstraseluler, Lapisan permukaan flokkular atau fibrillar, Mannan, Chitin, Hydrofobisitas, Proteinase atau fosforilase, Lemak seluler.
2. Faktor yang berhubungan dengan sel *host*, asal sel, Ukuran sel mukosa dan viabilitas, fibronektin, fibrin, hormon seks, penderita karier atau infeksi *C.albicans*.
3. Faktor lingkungan, kation, pH, glukosa, *saliva*, antibodi humoral dan serum, obat antibakteri, bakteri, lektin.

Adapun tahap perlekatan *C.albicans* sampai terjadinya infeksi pada mukosa dapat digambarkan dalam skema sebagai berikut (Odds, 1994) :



Gambar 2.6 Skema Tahap Perlekatan *C.albicans* Sampai Terjadinya Infeksi (Odds, 1994)

### 2.2.10 Faktor virulensi *C.albicans*

*Candida albicans* memiliki sejumlah karakteristik yang berperan sebagai faktor virulensi sehingga dapat menyebabkan ataupun memperberat infeksi pada *host* yang rentan. Berbagai faktor virulensi diekspresikan atau diperlukan oleh *C.albicans*, tergantung pada tempat dan tahap invasi serta respons dari *host*. Faktor virulensi tersebut antara lain : Perlekatan pada sel *host*, kemampuan germinasi, perbedaan biotip, sekresi enzim hidrolitik proteinase dan posforilase (Bernardis, 1996; Colina, 1996). Diantara faktor virulensi tersebut di atas yang paling penting adalah sekresi enzim proteinase.

Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim proteolitik ekstra seluler yang paling penting dari *C.albicans* adalah aspartil proteinase

(SAP), karena dapat merusak sejumlah substrat *host*, yaitu lapisan keratin epitel, kolagen kulit, albumin, hemoglobin dan IgA (Bernadis, 1996; Colina, 1996). Enzim SAP tersebut diproduksi oleh sekurang-kurangnya 7 gen yang pengaturan dan ekspresinya berbeda, tergantung pada tempat dan tahap invasi serta respons dari *host* (Odds, 1994; Flahaut, 1998).

Dari hasil analisis RNA menunjukkan bahwa SAP1 dan SAP3 diekspresikan pada saat perubahan fenotip dari putih ke opak, sedang SAP2 diekspresikan oleh sel *yeast* yang ditumbuhkan pada media yang mengandung protein sebagai sumber nitrogen. Adapun SAP4, SAP5 dan SAP6 dideteksi pada pH netral pada fase transisi dari bentuk *yeast* ke bentuk *hyphae*.

#### 2.2.11 Infeksi *C.albicans* dan sistem imun

Infeksi *C.albicans* yang terjadi sebagai akibat patogen oportunistik terutama dihubungkan dengan kelainan imunologis. Infeksi *C.albicans* umumnya menunjukkan indikasi pada rongga mulut dan lebih didasarkan pada imunodefisiensi. Dengan sedikit perubahan pada pertahanan sel *host*, organisme komensal akan menyebabkan infeksi (Leville, 1993).

Berbagai defek imunologis yang berkaitan dengan patogenesis infeksi *C.albicans* antara lain (Fratti, 1996; Filler, 1996) :

1. defek sitotoksitas terhadap *C.albicans*.
2. menurunnya produksi limfokin
3. kegagalan respons satu atau lebih antibodi anti *Candida*
4. defek sitotoksitas secara umum
5. kegagalan aktivasi limfosit terhadap antigen *Candida*
6. terjadi reaksi DTH pada tes kulit terhadap *Candida* atau antigen lain

## 7. terjadi abnormalitas pada sel T sitotoksik (Ts)

Dalam penelitian ini tidak difokuskan pada salah satu defek imunologis tersebut di atas, tetapi lebih ditekankan pada interaksi dari beberapa perubahan imunologis yang terjadi pada penderita DM.

## 2.3 Sistem Imun

### 2.3.1 Batasan Sistem Imun

Sistem imun adalah semua mekanisme yang digunakan oleh tubuh untuk mempertahankan keutuhannya sebagai perlindungan terhadap bahaya yang ditimbulkan oleh berbagai bahan dalam lingkungan. Sistem imun terdiri atas komponen genetik, molekuler dan seluler yang berinteraksi membentuk jaringan komunikasi yang rumit dan luas yang berfungsi mengatur mekanisme imun (Subowo, 1993; Baratawijaya, 1996; Stites, 1997).

Sistem imun sebagai suatu mekanisme fisiologik dalam tubuh merupakan respons yang mampu mengenal suatu zat sebagai asing untuk menetralkan, mengeliminasi dan memetabolisasi benda asing tersebut dengan atau tanpa menyebabkan kerusakan pada jaringan itu sendiri (Bellanti, 1993). Kualitas respons imun sangat tergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenal molekul asing atau antigen yang terdapat pada permukaan patogen dan kemampuan untuk memberikan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan antigen tersebut (Abbas, 1994; Baratawijaya, 1996; Stites, 1997).

### 2.3.2 Fungsi sistem imun

Sistem imun berfungsi untuk melawan mikroorganisme patogen, baik intra seluler maupun ekstra seluler. Fungsi sistem imun dapat terganggu, baik



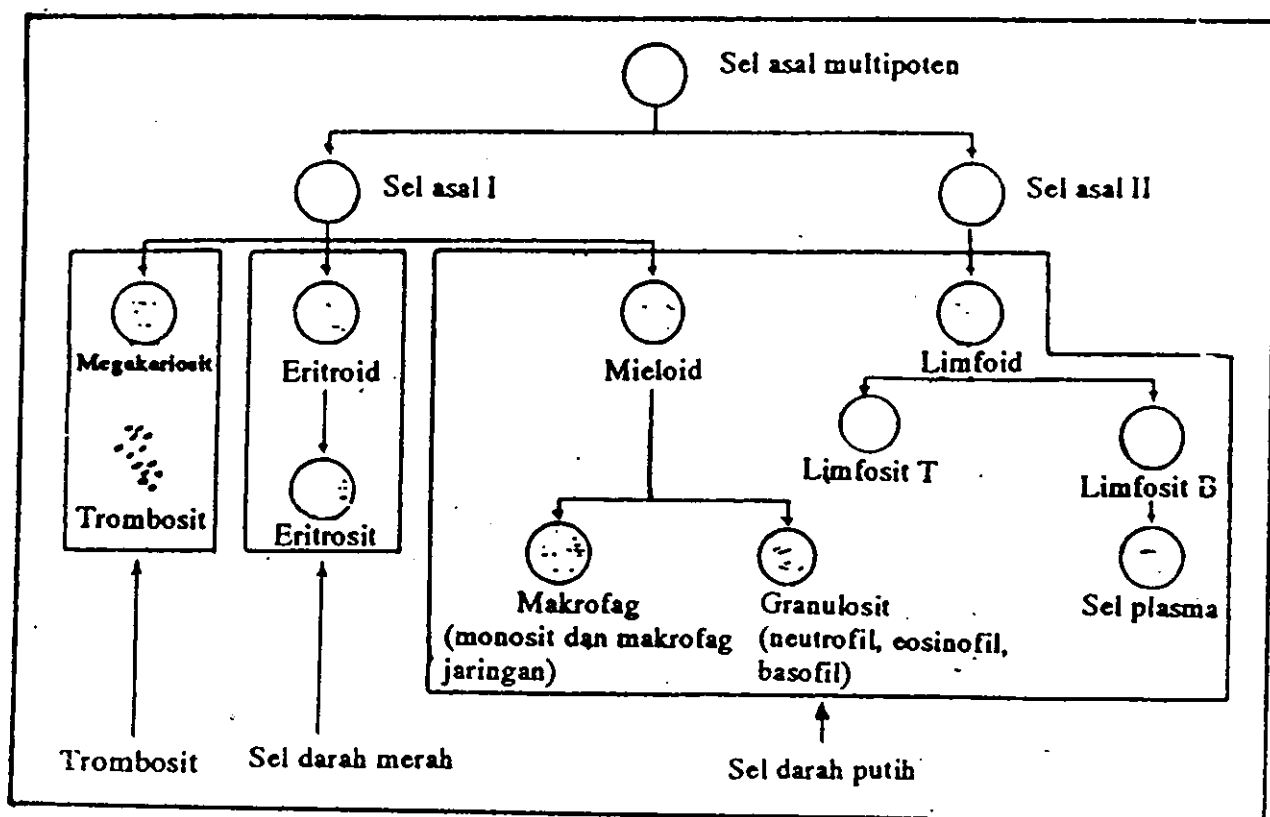
primer maupun sekunder, sehingga menimbulkan ketidak seimbangan yang dapat bermanifestasi menjadi infeksi yang berulang atau merupakan predisposisi terhadap suatu keganasan dan otoimunitas, ataupun dengan pembentukan IgE yang berlebihan (Baratawijaya, 1996).

Fungsi sistem imun diperlukan dalam hal (Bellanti, 1993; Baratawijaya, 1996) :

1. Pertahanan tubuh, yang ditujukan terhadap infeksi oleh mikroorganisme, antara lain melalui : pengenalan (membedakan) bahan asing atau diri sendiri, destruksi, dan regulasi
2. Homeostasis, terutama untuk eliminasi komponen tubuh yang sudah tua atau rusak
3. Pengawasan (*surveillance*), untuk penghancuran sel yang bermutasi

### 2.3.3 Sel imunokompeten

Sel imunokompeten tersebar di seluruh tubuh, dan sel tersebut berasal dari sel asal yang multipoten kemudian berdiferensiasi menjadi 2 golongan sel asal. Sel asal pertama berkembang menjadi : a. Megakariosit, sel asal trombosit; b. Eritroid, sel asal eritrosit; c. Sel mieloid, sel asal granulosit, monosit atau basofil, monosit dan makrofag. Sedang sel asal yang ke dua berkembang menjadi sel limfoid, sel asal sel B dan sel T. Sel mieloid selanjutnya berkembang menjadi sel yang berperan dalam sistem imun non spesifik, dan sel limfoid berkembang menjadi sel yang berperan dalam sistem imun spesifik. Adapun pembagian sel imunokompeten tersebut di atas dapat digambarkan dalam skema proses pematangan sel tersebut sebagai berikut (Baratawidjaya, 1996):



Gambar 2.7 Skema proses pematangan sel sistem imun (Baratawidjaya, 1996)

### 2.3.4 Pembagian respons imun

Bila tubuh terpapar dengan bahan asing atau imunogen, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin terjadi yaitu :

1. Respons imun non-spesifik (*innate immunity*).

Respons ini merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme melalui proses fagositosis. Hal ini disebabkan karena sistem ini dapat memberikan respons langsung terhadap antigen karena sudah ada secara alamiah, tanpa didahului oleh rangsangan imunogen, bekerjanya tidak spesifik terhadap antigen

tertentu dan dilaksanakan oleh barier kulit, sel PMN, makrofag, sel NK dan mediator interferon tanpa pengenalan terlebih dahulu serta ditujukan pada semua mikroorganisme. Manifestasi respons imun non-spesifik yang lain adalah reaksi inflamasi dengan mengerahkan komponen sistem imun ke tempat benda asing atau mikroorganisme. Adapun sel sistem imun non spesifik dapat dibagi menurut fungsinya (Baratawijaya, 1996; Stites, 1997) :

1. Fagosit : Polimorfonuklear (PMN) termasuk eosinofil dan mononuklear termasuk makrofag dan eosinofil.
2. Sel nol atau sel populasi ke tiga : Sel *Natural Killer* (NK) dan sel *Killer* (K).
3. Sel mediator : Basofil, mastosit dan trombosit

## 2. Respons imun spesifik

Bekerjanya didahului oleh adanya rangsangan imunogen, spesifik untuk antigen tertentu, heterogen dan memiliki daya ingat atau memori, dilaksanakan oleh sel yang mempresentasikan antigen atau *Antigen Presenting Cells* (APC) dan limfosit. Pada respons imun spesifik, mekanisme efektor dilakukan dengan dua cara :

1. Imunitas humoral yang diawali dengan diferensiasi limfosit B menjadi klon sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik terhadap antigen tertentu. Antibodi tersebut selanjutnya akan berikatan dengan antigen membentuk kompleks antigen-antibodi yang dapat mengaktifasi komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut. Untuk diferensiasi limfosit B dapat

langsung dari rangsangan antigen atau dengan bantuan T penolong atau T *helper* (Th) yaitu CD4+ dan T supresor (Ts) yaitu CD8+, sehingga produksi antibodi seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan.

2. Imunitas seluler, diperankan oleh limfosit T. Limfosit merupakan kunci pengontrol sistem imun, karena sel tersebut dapat mengenal benda asing dan membedakannya dari sel jaringan sendiri. Kemampuan limfosit ini disebabkan oleh adanya reseptor pada permukaan sel. Terdapat 2 jenis sel limfosit yaitu:

- a. Sel T

Sel T terdiri atas subpopulasi yaitu T *helper* yang terdiri atas T *helper* 1 (Th1) dan T *helper* 2 (Th2), dan fungsinya dalam meregulasi sistem imun juga berbeda, tetapi diduga berasal dari sel prekursor yang sama yaitu T *helper* 0 (Th0). Perbedaan dari kedua tipe T *helper* ini ditandai dengan perbedaan pola sitokin yang dihasilkan (Haryana, 1997; Romagnani, 1997). Sel Th ini akan mengenali antigen melalui *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas II yang terdapat pada permukaan makrofag. Subpopulasi sel T yang lain adalah T supresor atau sitotoksik yang berfungsi menghancurkan mikroorganisme melalui MHC kelas I. Adapun fungsi sel T adalah (Baratawijaya, 1996) : a). membantu sel B dalam produksi antibodi; b). mengenal dan menghancurkan sel yang terinfeksi; c). mengak-

tifkan makrofag dalam fagositosis; d). mengontrol ambang dan kualitas sistem imun.

b. Sel B

Sel B diaktifkan oleh sitokin yang diproduksi oleh Th terutama Th2 dalam tiga tingkatan yaitu : aktivasi, proliferasi dan diferensiasi menjadi sel B memori dan plasma yang memproduksi imunoglobulin.

#### 2.3.4 Sistem imun mukosa

Permukaan mukosa merupakan daerah yang setiap saat kontak dengan berbagai antigen termasuk komponen yang terdapat pada makanan dan produk bakteri, dan sekresi yang membasahi permukaan epitel berperan penting dalam melindungi permukaan mukosa terhadap berbagai mikroorganisme termasuk *C.albicans* (Challacombe, 1994; Ogra, 1994).

Dalam rongga mulut, kesehatan mulut sangat tergantung pada keutuhan mukosa yang secara normal menghalangi masuknya mikroorganisme (Ogra, 1994; Lehner, 1995). Rongga mulut sebagai bagian dari jaringan mukosa mempunyai struktur yang sama dengan jaringan mukosa pada usus, paru dan jaringan mukosa lainnya. Perbedaannya adalah karena dalam rongga mulut terdapat gigi-geligi sehingga lebih mudah teriritasi. Berbagai faktor yang bertanggung jawab untuk mempertahankan kesehatan rongga mulut antara lain adalah : keutuhan mukosa, saliva, cairan sulkus gingiva dan komponen imun baik humoral maupun seluler (Schroeder, 1991; Challacombe, 1994).

### 2.3.5 Prinsip imunologi mukosa

Proses imunitas pada jaringan mukosa merupakan sistem tersendiri sebagai subsistem. Hal ini disebabkan karena jaringan mukosa mengandung jaringan limfoid yang merupakan satu kesatuan yang termasuk dalam *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue* (MALT).

Mukosa diproteksi oleh sistem pertahanan non spesifik yaitu : musin, lisosim, laktoperin dan laktoperoksidase dan pertahanan spesifik yaitu sistem imun sistemik dan sistem imun sekretori (Ogra, 1994).

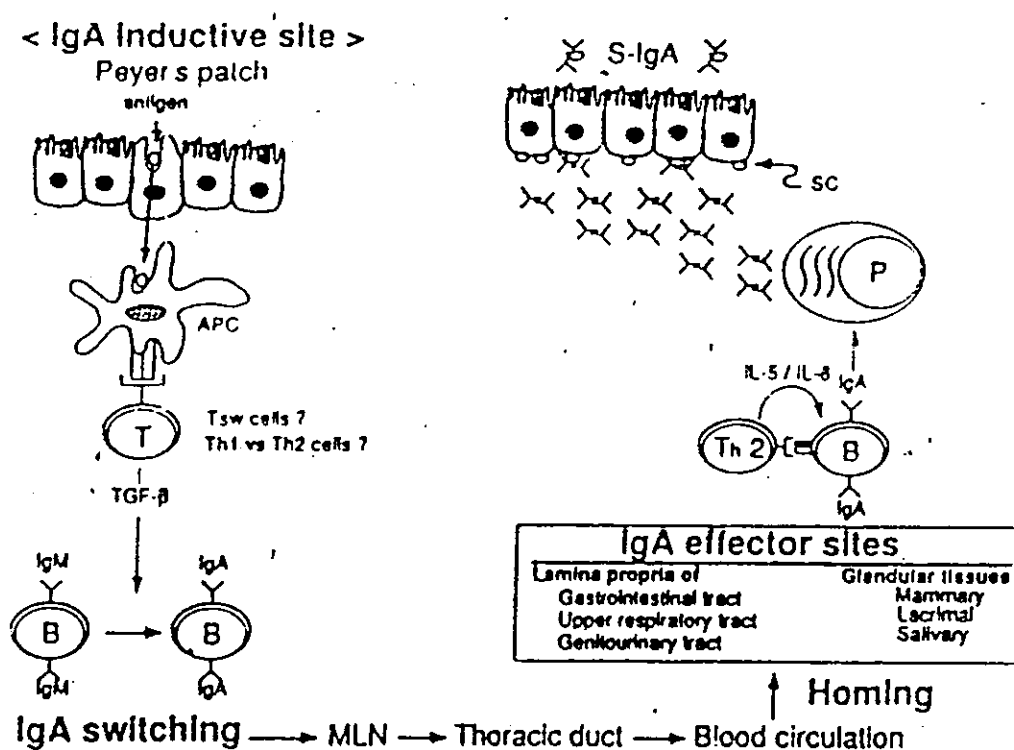
Jaringan mukosa dilapisi dengan epitel di permukaan, di mana mikrobial patogen dan bahan toksik pertama kali kontak dengan *host* yang potensial menyebabkan terjadinya infeksi. Berbagai mekanisme yang terjadi pada permukaan mukosa untuk mencegah invasi mikrobial atau toksin tersebut, yaitu mekanisme imun dan non imun.

Pada mekanisme imun mukosa, yang terutama adalah adanya sIgA yang disekresi untuk melapisi permukaan mukosa. Sekretori IgA tersebut berfungsi antara lain (Ogra, 1994; Kiyono, 1994) : a). menghambat perlekatan mikroorganisme ke permukaan mukosa, b). mencegah penyerapan antigen pada mukosa, c). netralisasi mikroorganisme patogen intraseluler, d). mengikat antigen pada permukaan mukosa.

Sistem imun mukosa terdiri dari jaringan limfoid yang terdapat pada permukaan mukosa yaitu saluran pencernaan, pernapasan dan urogenital (Stites, 1994).

Jaringan limfoid ini terbagi atas tiga bagian yaitu : *Payer's Patch* (PP), lamina propria limfosit (LPL) dan intra epitelial limfosit (IEL). Derivat dari PP

tersebut mempunyai potensi untuk mengalami perubahan *isotype*, seperti yang terjadi pada limfosit B sIgM yang berubah menjadi limfosit B sIgA secara invitro, yang regulasi dan diferensiasinya ditentukan oleh sitokin yang diproduksi oleh Th2 seperti pada gambar berikut :



Gambar 2.8 Regulasi sel T dan sitokin pada respons sel B pada tempat induksi dan efektor IgA (Mega, 1992)

Pada LPL limfosit didominasi oleh limfosit B dan sel plasma IgA. Pada keadaan defisiensi IgA komposisi sel yaitu limfosit B sel plasma IgM lebih banyak dibanding dengan IgA. Sedangkan IEL merupakan limfosit efektor khusus yang berfungsi sebagai sitotoksik dan APC, yang pada keadaan normal jumlahnya

relatif sedikit dibanding dengan LPL, tetapi jumlah tersebut meningkat pada keadaan inflamasi (Putra, 1997).

### 2.3.6 Mekanisme perlekatan *C.albicans* pada mukosa

Perlekatan *C.albicans* pada permukaan mukosa merupakan kunci awal terjadinya infeksi (Olsen, 1990; Ogra, 1994; Bailey, 1995).

Perubahan pada komponen dinding sel akan mempengaruhi sifat perlekatan *C.albicans* akan menyebabkan perluasan infeksi ke jaringan sekitar.

Dalam mekanisme perlekatan, komponen protein permukaan sel *C.albicans* berperan penting karena berfungsi sebagai perekat dan yang terutama adalah lektin. Hal ini disebabkan karena lektin berperan sebagai epitop dan berikatan dengan glikokonjugat dari sel *host* yang berperan sebagai reseptor (Kennedy, 1988; Ogra, 1994).

Perlekatan *C.albicans* terjadi karena adanya interaksi antara epitop dengan reseptor yang diekspresikan oleh permukaan mukosa, sehingga memungkinkan untuk berkembangnya infeksi. Di sisi lain perlekatan *C.albicans* dapat dihambat oleh anti-adhesif yang terdapat pada mukosa, yaitu sIgA, karena menghambat interaksi antara epitop dengan reseptor pada tempat perlekatan (Kennedy, 1988; Ogra, 1994; Putra, 1997).

### 2.3.7 Struktur dan fungsi MALT

Organ yang termasuk dalam pertahanan mukosa dan disebut *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue* (MALT) terbagi menurut jenis organ yaitu : *Bronchus-Associated Lymphoid Tissue* (BALT), *Gut-Associated Lymphoid Tissue* (GALT), *Nous-Associated Lymphoid Tissue* (NALT), kelenjar mammary, kelenjar



saliva, kelenjar lakrimale, organ genitourinari dan telinga bagian dalam (Ogra, 1994).

MALT terdiri atas agregasi limfosit yang terdapat pada lamina propria dan submukosa dengan ukuran yang bervariasi dari nodulus limfoid yang soliter (folikel) sampai pada akumulasi besar tergantung letak organ.

Kelenjar limfoid pada mukosa akan menerima imunogen melalui epitel spesial yaitu sel M (*microfold*) yang menutupi komponen limfoid, kemudian memasuki area "Dome" melalui beberapa kejadian :

1. imunogen akan terikat dengan permukaan sel M
2. imunogen akan masuk ke sel M melalui pinositosis atau endositosis
3. vesikel yang berisi imunogen melintas dari permukaan luar ke permukaan dalam sel M
4. imunogen dilepas ke area subepitelial

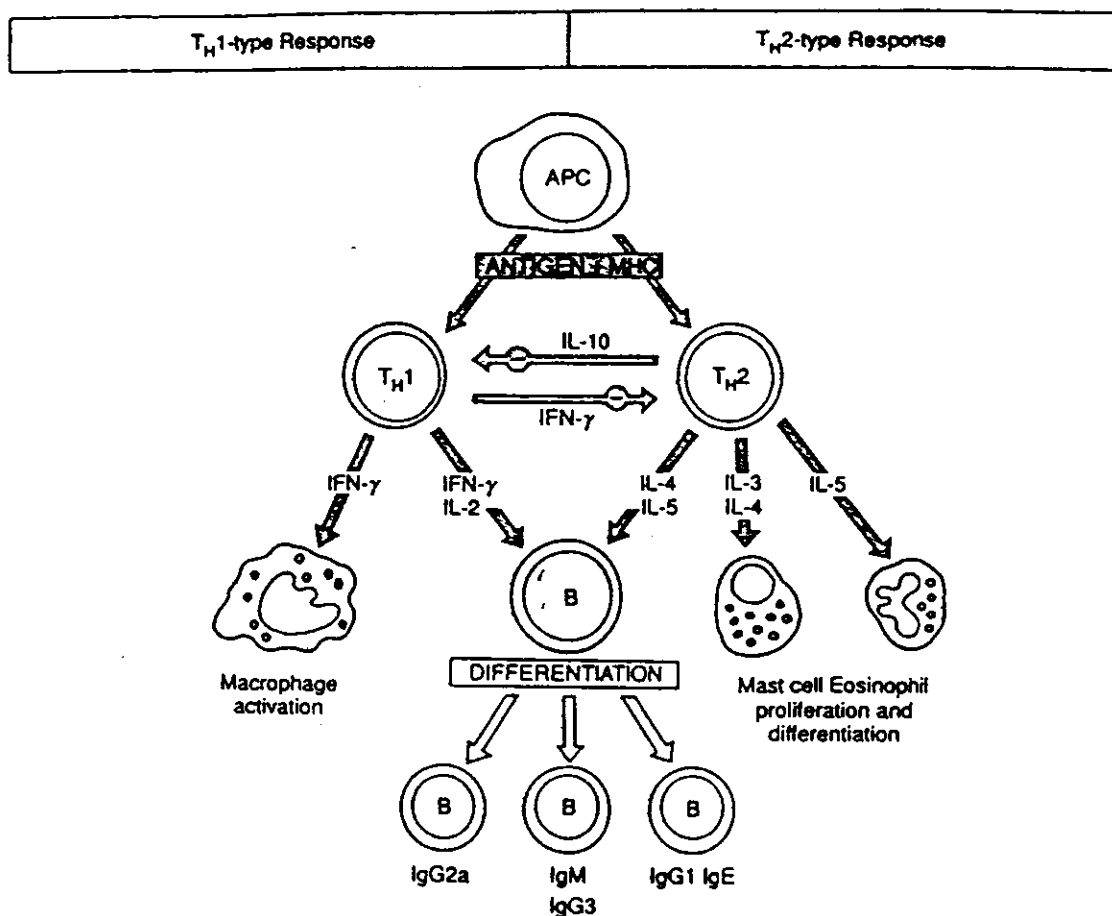
Pada area *Dome imunogen* akan diekspresikan oleh APC bersama dengan MHC kelas II untuk dikenali oleh limfosit T. Sedang di bawah area "Dome" terdapat folikel yang berisi *germinal centre* (GC) sebagai tempat proliferasi dan maturasi limfosit B.

### **2.3.8 Keseimbangan sel Th1 dan Th2**

Definisi sel Th1 dan Th2 adalah bentuk polarisasi dari respons imun spesifik yang terjadi akibat kombinasi aksi antara faktor genetik dan lingkungan, dan menghasilkan produksi sitokin yang selektif (Hamblin, 1993; Romagnani, 1997). Secara fungsional polarisasi respons sel T (*T helper*) manusia yang terdiri atas sel Th1 dan Th2 didasarkan pada profil sitokin yang dihasilkan, dimana sel

Th1 menghasilkan sitokin antara lain : IFN-gamma, IL-2 dan TNF, sedang Th2 menghasilkan sitokin antara lain : IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan sebagainya, sehingga menyebabkan perbedaan peran dalam hal proteksi, misalnya Th1 berperan terutama untuk proteksi terhadap mikroorganisme intraseluler termasuk *C.albicans* dan Th2 berperan terutama untuk mikroorganisme ekstraseluler. Selain itu, juga berbeda dalam hal respons terhadap reaksi imunopatologi, di mana Th1 memberi respons pada penyakit otoimun dari organ spesifik, penolakan reaksi alograf, aborsi yang berulang, kontak dermatitis dan beberapa peradangan kronik yang tidak diketahui etiologinya. Sebaliknya Th2 berperan untuk toleransi terhadap transplantasi kronik, kelainan atopik dan beberapa penyakit otoimun sistemik (Fuchs, 1996; Romagnani, 1996).

Menurut Hamblin (1993), respons imun diperantarai oleh sel Th1 dan Th2, dan stabilitasnya ditentukan oleh keseimbangan di antara keduanya melalui produksi sitokin terutama IFN-gamma (Th1) dan IL-10 (Th2) seperti tampak dalam gambar sebagai berikut :



Gambar 2.9 Respons Th1 dan Th2 (Hamblin, 1993)

Interferon secara keseluruhan penting, selain sebagai pertahanan terhadap berbagai virus dan mikroorganisma intra-seluler lainnya, juga untuk meregulasi respons imun (imunoregulator) dalam perkembangan sel hematopoetik. Tetapi hanya IFN-gamma yang mempunyai efek paling potensial dalam imunoregulator pada berbagai sel termasuk meningkatkan ekspresi gen yang memproduksi MHC klas I dan klas II. Sebagaimana yang dilaporkan oleh Egwuagu (1999), bahwa IFN-gamma merupakan sitokin peliotropik yang berimplikasi dalam mekanisme imunopatogenik pada sejumlah penyakit inflamasi atau etiologi penyakit infeksi. Hal ini dapat dijelaskan seperti tampak pada Tabel 2.2 sebagai berikut :

Tabel 2.2 Aktivitas biologis dari IFN (Hamblin, 1993)

	IFN- $\alpha$	IFN- $\beta$	IFN- $\gamma$
Enhances or inhibits cell differentiation	+	-	+
Enhances Class I MHC expression	+	+	+
Induces or enhances Class II MHC expression	-	-	+
Activates macrophages	-	-	+
Enhances NK cell activity	+	+	+
Enhances B cell proliferation and maturation	-	-	+
Increase secretion of other cytokines	-	-	+
Increase cell surface receptors for Fc $\gamma$ and cytokines	-	-	+
Inhibits normal and transformed cell growth	+	+	+
Protects cells from viruses	+	+	+
Counteracts effects of IL-4 on B cells	-	-	+

Selain itu IFN-gamma juga dapat meniadakan efek IL-4 pada sel B, sehingga menghambat aktivitas sel Th2. Menurut Gaviria (1999), IFN-gamma sebagai proinflamatori sitokin, mempunyai fungsi yang lebih superior dari G-CSF atau GM-CSF dalam hal aktivitasnya untuk meningkatkan kemampuan fagosit PMN terhadap jamur oportunistik. Sedang IL-10 adalah sitokin yang dihasilkan oleh sel Th2 yang merupakan sitokin penting untuk mengatur sel Th. Interleukin-10 juga diketahui sebagai sitokin yang mensintesis faktor inhibitor, karena menekan CMI dan selanjutnya menghambat pada efek Th1 dengan menghambat produksi IFN-gamma dan IL-2. Interleukin-10 juga menghambat produksi IL-1, TNF, IL-6 dan IL-8 serta sitokin yang terlibat dalam proses inflamasi akut maupun kronis. Adapun aktivitas biologis dari IL-10 digambarkan dalam Tabel 2.3 sebagai berikut :

Tabel 2.3 Aktivitas biologis dari IL-10 (Hamblin, 1993)

---

Inhibits cytokine production by Th1 cells
Enhances T cell proliferation in the presence of IL-2 and IL-4
Enhances differentiation of cytotoxic T cells
Stimulates mast cell growth
Inhibits IFN production by NK cells
Inhibits Class II MHC and adhesion molecule expression and cytokine production by monocytes and macrophages
Enhances Class II MHC expression on B cells
Enhances proliferation and differentiation of activated B cells

---

Selain IFN-gamma dan IL-10, terdapat sejumlah sitokin lain yang diproduksi oleh sel Th1 dan Th2, tetapi mempunyai aktivitas biologis atau fungsi maupun sifat fenotif yang berbeda termasuk perbedaan spesies.

Adapun fungsi dan sifat fenotif dari sel Th1 dan Th2 pada manusia dapat digambarkan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 2.4 Tabel Fungsi Dan Sifat Fenotip Sel Th1 dan Th2 manusia (Romagnani, 1996)

Property	Th1	Th2
<b>Cytokine secretion</b>		
IFN- $\gamma$	+++	-
TNF- $\beta$	+++	-
IL-2	+++	++
TNF- $\alpha$	+++	++
GM-CSF	+++	++
IL-3	++	+++
IL-10	++	+++
IL-13	++	+++
IL-4	-	+++
IL-5	-	+++
<b>Cytolytic potential</b>	+++	-
<b>B-cell help for Ig synthesis</b>		
IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgA	/	
At low T:B cell ratios	+++	++
At high T:B cell ratios	-	+++
IgE, IgG4	-	+++
<b>Monocyte activation</b>	/	
Induction of PCA	+++	-
TF production	+++	-
Inhibition of TF production	-	+++
<b>Surface expression</b>		
CD30	+/-	+++
LAG-3	+++	+/-
<b>Release in biological fluids</b>		
sCD30	+/-	+++
sLAG-3	+++	+/-

Note. PCA, procoagulant activity; TF, tissue factor.

### 2.3.9 Peran subset Th1 dan Th2 terhadap respons imun mukosa

Peran limfosit T *helper* (CD4+) dan T *suppressor* (CD8+) ditentukan dalam bentuk rasio yang pada keadaan normal CD4+/CD8+ adalah 2:1. Fungsi subset Th1 dan Th2 ditentukan oleh sekresi *cytokine profile* dari limfosit T *helper* (CD4+) tersebut, dan IFN-gamma (produk Th1) dan IL-10 (produk Th2) merupakan sitokin yang sangat diperlukan untuk pertumbuhan kedua sel tersebut (Putra, 1997; Romagnani, 1997).

Sel Th1 selain menghasilkan IL-2, juga menghasilkan interferon (IFN) dan *Tumor Necrosing Factor* (TNF). Sedang Th2 selain menghasilkan IL-10 juga menghasilkan IL-4, IL-5 dan IL-6. Bila terjadi peningkatan IFN produk Th1 maka akan menurunkan fungsi Th2, sedang bila terjadi peningkatan IL-10 produk Th2 akan menghambat fungsi Th1 (Hamblin, 1993). Beberapa sitokin subset Th yang berperan pada respons imun mukosa yaitu dalam hal produksi IgA ditunjukkan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 2.5 Peran Subset Limfosit Th1 dan Th2 Terhadap Respons IgA (Kyono, 1994)

Subset Th	Jenis Sitokin	Efek pada respons IgA
Th1	IL-2	Sintesis IgA meningkat, sinergistik dengan IL-5 dan TGFbeta (Keduanya meningkatkan sintesis IgA)
	IFN-gamma	Menurunkan fungsi Th2
	TNFbeta (LT)	None
	TGFbeta (?)	Menyebabkan perubahan isotype IgA
Th2	IL-4	Diduga ikut dalam perubahan iso terhadap sintesis IgA
	IL-5	Menyebabkan diferensiasi limfosit B sIgA+ menjadi sel plasma IgA+
	IL-6	Memaksimumkan sintesis IgA, mem pengaruhi limfosit B IgA dan me nyebabkan sel plasma mensekresi IgA
	IL-10	Menurunkan fungsi Th1

### 2.3.10 Sitokin

Sitokin adalah protein yang umumnya berukuran 15-30 kDA, dihasilkan oleh sel sebagai respons terhadap berbagai rangsangan dan merupakan protein regulator dan imunomodulator dalam sejumlah proses fisiologis serta dikontrol oleh mediator yang dapat larut (*soluble mediators*). Sitokin merupakan *messenger* kimia atau perantara dalam komunikasi interselular yang sangat poten dan aktif pada kadar yang sangat rendah sekalipun, dan bekerjanya seperti hormon yaitu

melalui reseptor pada permukaan sel sasaran (Clemens, 1991; Hamblin, 1993; Cunningham & Green, 1994; Stites, 1997).

Sitokin adalah mediator berupa peptida yang berfungsi menurunkan atau meningkatkan respons imun seperti aktivasi sel T dan sel B, monosit dan makrofag, induksi sitotoksitas dan inflamasi. Sitokin juga memberi respons terhadap penyembuhan jaringan rusak, termasuk efek anti neoplastik dan hematopoiesis, tergantung pada jenis sitokin. Setiap sitokin disekresi oleh tipe sel tertentu dalam hal respons terhadap rangsangan dan menghasilkan efek atau fungsi biologis yang berbeda pada sel target (Stites, 1997). Berikut beberapa jenis sitokin dan fungsi biologisnya :

Tabel 2.6 Fungsi biologis sitokin

Sitokin	Fungsi Biologis
IL-1	Mengaktifkan sel T, merangsang sel T untuk memproduksi limfokin, <i>co-factor</i> untuk <i>haematopoietic growth factor</i> , menimbulkan panas, tidur, penglepasan ACTH, neutrophilia dan respons akut sistemik lainnya, merangsang sintesis limfokin kolagen dan kologenease, mengaktifkan sel endotel dan makrofag, perantara dalam inflamasi, proses katabolik dan resistensi non spesifik terhadap bakteri
IL-2	<i>Growth factor</i> untuk sel T yang diaktifkan, merangsang sintesis limfokin lain, mengaktifkan sel Tc
IL-3	Membantu pertumbuhan sel pleuripoten dalam sumsum tulang, <i>growth factor</i> untuk mastosit
IL-4	<i>Growth factor</i> untuk sel B yang diaktifkan, meningkatkan ekspresi HLA-DR pada sel B, <i>growth factor</i> untuk sel T, meningkatkan aktivitas sitolitik dan sel Tc, <i>mast cell growth factor</i> , bekerja sinergistik dengan CSF dalam merangsang hematopoiesis
IL-5	Mungkin meningkatkan produksi IgM dalam sel B
IL-6	Merangsang profuksi Ig oleh sel B
IL-7	Meningkatkan proferasi sel pre-B dan pro-B, timosit, merangsang proliferasi sel T matang dengan jalan meningkatkan produksi IL-2 dan reseptor IL-2 atas pengaruh mitogen atau antigen
IL-8	Mengaktifkan neutrofil
IL-9	Pertumbuhan dan proliferasi sel T dan mastosit
IL-10	Menghambat produksi sitokin dan pertumbuhan mastosit



Tabel 2.6 Fungsi biologis sitokin (lanjutan)

Sitokin	Fungsi Biologis
IL-11	Mengatur kinetik pertumbuhan dari berbagai sel haematopoetik progenitas, sinergistik dengan IL-3 dan IL-4 untuk mendukung proliferasi yang lebih awal dari sel progenitor. Sama dengan IL-6 yaitu merangsang proliferasi plasmosit
IL-12	Sinergistik dengan IL-2 dan aktivasi sel NK
IL-13	Menghambat fungsi makrofag
IL-14	Proliferasi untuk aktivasi sel B
GM-CSF	Meningkatkan koloni neutrofil, eosinofil dan makrofag dalam sumsum tulang, mengaktifkan granulosit matang
G-CSF	Meningkatkan koloni neutrofil
M-CSF	Meningkatkan koloni makrofag
IFN	Anti-virus, meningkatkan ekspresi antigen kelas I dan aktivitas sel NK, menimbulkan panas dan mempunyai sifat antiproliferatif
IFN-gamma	Meningkatkan ekspresi kelas II HLA-DR pada berbagai sel, mengaktifkan makrofag dan endotel, meningkatkan atau menghambat kerja limfokin, meningkatkan aktifitas sel NK, anti-virus, meningkatkan ekspresi reseptor IL-2
TNF	Antineoplastik (langsung), menimbulkan panas, tidur dan respons fase akut sistemik, merangsang sintesis limfokin, kolagen dan kolagenase, mengaktifkan sel endotel dan makrofag, mediator pada inflamasi, proses katabolik dan syok septik
TGF	Fibroplasia dan imunosupresi pada penyembuhan luka dan perubahan tulang
IL-15	Berperan penting dalam aktifitas biologis sel limfoma kutaneus sel T, sebagai growth faktor dan kemoaktraktan untuk sel T serta pro-inflamatori
IL-16	Kemoaktraktan sel CD4+ (Sel T, eosinofil dan monosit). Ko-mitogen untuk sel T CD4+
IL-18	Merangsang produksi IFN-gamma atau IFN-gamma inducing factor (IGIF) dan berhubungan dengan IL-1

(Hamblin, 1993; Baratawijaya, 1996; Romagnani, 1996; Roitt, 1996; Stites, 1997; Dinarello, 1998; Dobbeling, 1998; Castagnoli, 1999; Fantuzzi, 1999).

Untuk dapat menimbulkan efek biologis, sitokin harus berikatan dengan reseptor spesifik yang ada pada permukaan sel target. Selanjutnya sinyal tersebut diteruskan ke inti sel melalui plasma membran dan menimbulkan efek biologis pada sel target. Awalnya substansi yang dihasilkan oleh limfosit disebut limfokin, sedang yang dikeluarkan oleh monosit disebut monokin, namun substansi tersebut

dihasilkan oleh sejumlah sel lain sehingga lebih tepat digunakan istilah sitokin (Clemens, 1991; Hamblin, 1993).

### 2.3.11 Perubahan imunopatologis

Perubahan imunopatologis adalah perubahan respons berupa inflamasi yang dicerminkan oleh komponen imunologis yang terjadi pada suatu infeksi. Perubahan respons tersebut berbeda pada infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme yang berbeda, tetapi mekanisme tentang perbedaan respons tersebut belum diketahui dengan jelas. Menurut Filler (1996), perbedaan respons ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan pada variasi profil sitokin dan *Leucocyte Adhesion Molecule* (LAM) yang ekspresinya berbeda dengan rangsangan mikroorganisme yang berbeda. Sebagai contoh perubahan imunopatologis pada infeksi yang disebabkan oleh *C.albicans* berupa mikroabses, maka perubahan yang terjadi terutama ditandai dengan : supuratif granuloma yang terdiri atas *multinucleated giant cells*, makrofag yang histiositik dan neutrofil. Sedang pada inflamasi yang mengalami infiltrasi yang disebabkan oleh stafilokokus aureus terutama terdiri atas neutrofil.

## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

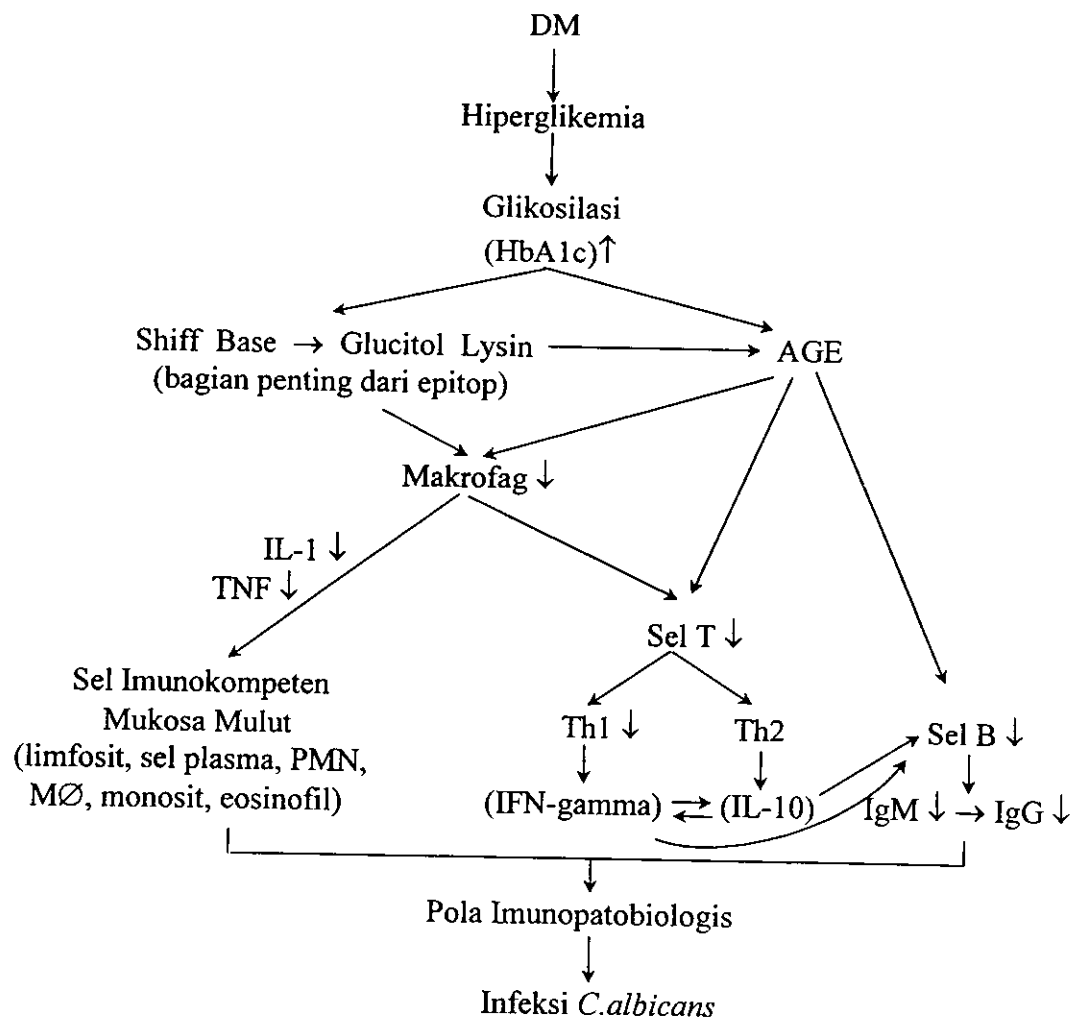
#### 3.1 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual dalam penelitian ini disusun berdasarkan landasan teori sebagai berikut :

1. *Candida albicans* merupakan flora normal dalam rongga mulut, saluran pencernaan dan vagina, tetapi dapat berubah menjadi patogen dan menyebabkan infeksi bila terjadi perubahan respons imun (*immunocompromise*) (Kaminishi, 1995; Filler, 1996; Flahaut, 1998).
2. *Candida albicans* merupakan kelompok mikroorganisme intra seluler, dan respons imun yang berperan untuk proteksi adalah *Cell Mediated Immunity* (CMI) (Nelson, 1991; Abbas, 1994; Challcombe, 1994; Fidel, 1995; Levitz, 1996 ).
3. Terjadinya infeksi *C.albicans* diawali dengan perlekatan *C.albicans* pada epitel mukosa (Olsen, 1990; Darwazeh, 1991; Bailey, 1995).
4. Infeksi *C.albicans* rongga mulut lebih sering dijumpai pada penderita DM, terutama pada regulasi jelek dengan kadar HbA1c mencapai 12% atau lebih (Sentochnick & Eliopoulos, 1994).
5. Diabetes Mellitus adalah suatu sindroma klinik akibat gangguan metabolisme karbohidrat yang ditandai dengan hiperglikemia kronik dan kurang efektifnya pemakaian glukosa (Tjokroprawiro, 1996; Wijaya, 1997).

6. Keadaan hiperglikemia menyebabkan ikatan non-enzymatik glukosa dengan protein (glikosilasi) meningkat yang ditandai dengan meningkatnya kadar HbA1c dan berakibat pada gangguan struktur dan fungsi protein sehingga bersifat imunogenik (Lyons, 1992; Kennedy, 1994).
7. Hasil proses glikosilasi berupa AGE sebagai imunogen dapat memicu produksi sejumlah sitokin antara lain : IFN-gamma, TNF-alfa, IL-2 (produk Th1), dan IL-4, IL-6, IL-8 dan IL-10 (produk Th2) (Mencacci, 1993; Marohoshi, 1995).
8. Hasil proses glikosilasi dapat merangsang makrofag untuk mensekresi TNF dan IL-1 (Suga, 1994).
9. Pada DM terjadi kelainan pada makrofag dalam hal aktivitasnya sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) (Faustman, 1991).
10. Regulasi sistem imun pada DM diatur oleh sel T memori CD4 yang ditunjukkan dengan peningkatan sitokin produk Th2, tetapi dapat berubah ke arah T *helper* 1 (Th1) sesuai dengan keadaan hiperglikemia (Shimada, 1996).
11. Stabilisasi respons imun ditentukan oleh keseimbangan antara IFN-gamma produk Th1 dan IL-10 produk Th2 (Hamblin, 1993).
12. Sitokin adalah polipeptida yang dihasilkan oleh berbagai tipe sel untuk mengatur fungsi sel yang lain dalam respons imun terutama TNF dan IL-1 (Cotran, 1999).

Dari landasan teori tersebut di atas, maka kerangka konseptual dibuat dalam bentuk skema sebagai berikut :



Gambar 3.1 Skema kerangka konseptual penelitian

Dalam mekanisme respons imun, peran dari kedua subset limfosit yaitu Th1 dan Th2 terjadi bersimpangan. Menurut Shimada (1996), pada penderita DM regulasi sistem imun diatur oleh sel memori  $CD4^+$  yang ditunjukkan dengan aktivasi sitokin yang diproduksi oleh Th2, tetapi aktivasi sitokin dapat berubah ke arah Th1 sesuai dengan keadaan hiperglikemia. Keadaan ini menunjukkan terjadinya perubahan kualitas respons imun yang disebabkan oleh adanya pergeseran perbandingan jumlah populasi limfosit T *helper* (T4) dan limfosit T supresor atau sitotoksik (T8).

Bila mekanisme respons imun didominasi oleh aktivitas sel Th1, maka respons imun ke arah seluler yang baik dapat mencegah terjadinya infeksi *C.albicans*. Sebaliknya, bila respons imun didominasi oleh sel Th2, maka akan menekan respons Th1 dan respons sel imunokompeten mukosa sehingga tidak efektif dalam fagositosis yang memungkinkan terjadinya perlekatan dan infeksi *C.albicans*. Dari kadar sitokin IFN-gamma dan IL-10 kedua subset limfosit serta sel imunokompeten mukosa mulut akan terbentuk suatu pola yang dapat dipakai sebagai petunjuk untuk mengungkap mekanisme terjadinya infeksi *C.albicans* rongga mulut.

### 3.2 Hipotesis

1. Ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara DM tanpa infeksi *C.albicans* dengan kontrol Non-DM tanpa infeksi *C.albicans*.
2. Ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 dalam serum antara penderita DM dan infeksi *C.albicans* rongga mulut dengan DM tanpa infeksi *C.albicans*.
3. Ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara penderita DM dan infeksi *C.albicans* rongga mulut dengan kontrol Non-DM dan infeksi *C.albicans*.
4. Ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 antara kontrol Non-DM dan infeksi *C.albicans* dengan tanpa infeksi *C.albicans*.
5. Pola Imunopatobiologis dapat digunakan untuk mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian yang bersifat observasional dengan rancangan *cross sectional* yang bertujuan untuk mendapatkan suatu indikator berupa variabel yang dapat digunakan untuk mengetahui perubahan respons imun pada penderita DM dengan kadar HbA1c yang tinggi dan ada tidaknya infeksi *C.albicans* dalam rongga mulut.

#### 4.2 Populasi, Sampel, Sampling dan Besar Sampel

Kasus dalam penelitian ini adalah penderita DM yang berkunjung ke Poli Endokrinologi RSUD. Dr. Soetomo Surabaya. Adapun kontrol sebagai pembanding adalah penderita yang memeriksakan giginya ke Klinik FKG Unair.

Sampel yang diteliti adalah populasi kasus dan kontrol yang memenuhi kriteria yang telah ditentukan yaitu :

1. Pria dengan pertimbangan bahwa pada perempuan akan terjadi gangguan keseimbangan hormonal yang dapat berpengaruh pada respons imun.
2. Berusia 40-60 tahun. Batas usia minimal 40 tahun dengan pertimbangan bahwa DM umumnya terjadi pada usia di atas 30 tahun dan perubahan respons imun terjadi setelah beberapa tahun menderita DM. Sedang batas maksimal 60 tahun dengan alasan bahwa perubahan respons imun yang terjadi diharapkan bukan karena faktor usia lanjut.
3. Tidak merokok, dengan alasan bahwa terdapat sejumlah hasil penelitian yang mengungkapkan bahwa rokok dapat menyebabkan perubahan respons imun.

4. Tidak memakai protesis karena dapat menyebabkan infeksi *C.albicans* dalam rongga mulut.
5. *Oral hygiene* baik-sedang, karena OH yang jelek merupakan salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya infeksi *C.albicans* rongga mulut.
6. Tidak ada tambalan amalgam, karena hasil penelitian menunjukkan bahwa amalgam dapat menyebabkan perubahan respons imun.
7. Tidak menderita penyakit (AIDS, Leukemia, Hipotiroid), dengan alasan bahwa perubahan respons imun yang terjadi diharapkan hanya disebabkan karena DM.
8. Tidak mendapat terapi steroid atau antibiotik, karena akan membunuh mikro-organisma kompetitif yang memungkinkan bagi pertumbuhan *C.albicans*.
9. Kasus DM dengan HbA1c > 8%, dengan pertimbangan bahwa risiko terjadi infeksi terutama bagi penderita DM yang tergolong regulasi jelek. Sedang kontrol dengan HbA1c < 6% (normal).

Semua sampel sebelumnya telah diberi penerangan secukupnya tentang tujuan dan manfaat penelitian serta diminta kesediaannya dengan menandatangani surat persetujuan (*inform consent*).

*Sampling* dalam penelitian ini diambil dari setiap sampel yang memenuhi kriteria dengan pertimbangan bahwa dengan kriteria yang telah ditetapkan cukup ketat, sehingga jumlah sampel yang diperoleh sangat terbatas. Sedang besar sampel ditentukan berdasarkan teknik penarikan sampel sesuai dengan jenis penelitian observasional. Dalam penelitian ini besar sampel ditentukan dengan rumus untuk n dengan data kontinu (Cochran, 1991) sebagai berikut :



$$n = \frac{n_0}{1 + n_0/N} \quad \text{di mana :} \quad n_0 = \frac{t^2 S^2}{r^2 Y^2}$$

n = besar sampel

t = jumlah kelompok

S = standar deviasi

r = faktor koreksi (10%)

Y = nilai rerata

N = prevalensi penderita DM yang berusia diatas 40 tahun + prevalensi penderita DM dengan kandidiasis (4,16% + 29,3% = 33,19)

Dengan menggunakan nilai rerata dari variabel IgA mukosa rongga mulut yang telah terpapar dengan imunogen (Moetmainah, 1993), maka besar sampel yang diperoleh dalam penelitian ini adalah :

$$n_0 = \frac{(0,497)^2 (4)^2}{(0,1)^2 (1,725)^2}$$

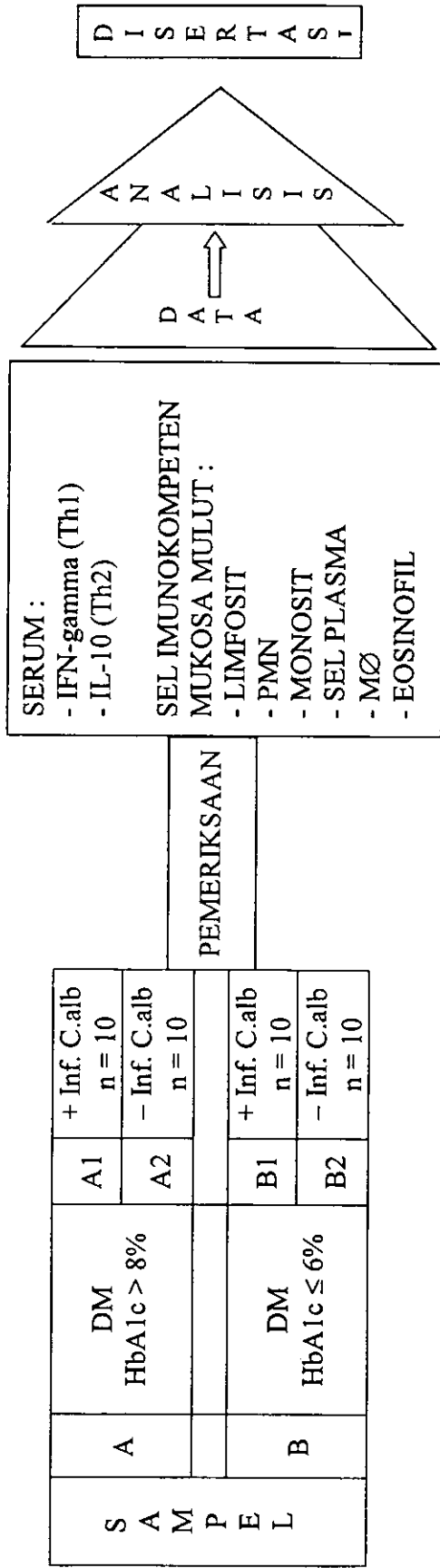
$$n_0 = \frac{3,952}{0,29}$$

$$= 13,3$$

$$n = \frac{13,3}{1 + 13,3/33,19} = 9,5$$

Jadi jumlah sampel penelitian untuk setiap kelompok adalah minimal 10.

4.3 Bagan Prosedur Penelitian



ANALISIS DATA :

1. UJI NORMALITAS
2. UJI HOMOGENITAS
3. UJI ANOVA
4. UJI MANOVA
5. ANALISIS DISKRIMINAN

- Sistemik
- A1 >< A2
- A1 >< B1
- A2 >< B2
- B1 >< B2

- Lokal
  - A1 >< A2
  - A1 >< B1
  - A2 >< B2
  - B1 >< B2
- MANOVA

SISTEMIK + LOKAL → DISKRIMINAN

#### 4.4 Unit Analisis

1. Darah vena
2. *Scrapping* epitel mukosa pipi
3. *Oral swab* (kultur *C.albicans*)

#### 4.5 Pengukuran Variabel

##### 4.5.1 Variabel tergantung

Kadar IFN-gamma (Th1) dan IL-10 (Th2) serta sel imunokompeten mukosa mulut (limfosit, sel plasma, PMN, Makrofag, monosit dan eosinofil).

##### 4.5.2 Variabel bebas

1. Diabetes Mellitus
2. Infeksi *C.albicans* rongga mulut yang ditentukan melalui kultur pada media *sabouraud agar*.

##### 4.5.3 Variabel kendali

1. Kadar HbA1c dengan metode RIA, yaitu DM regulasi jelek dengan kadar HbA1c > 8%
2. *Oral hygiene* (OH) dalam kriteria sampel ditentukan dengan metode *Oral Hygiene Index* (OHI) :
  - a. OH baik bila skor = 0,1 - 1,2
  - b. OH sedang bila skor = 1,3 - 2,0
  - c. OH jelek bila skor = 2,1 - 3,0

#### 4.6 Batasan Operasional

1. Diabetes Mellitus = DM :

Suatu kelainan metabolik yang ditandai dengan kadar glukosa darah yang tinggi ( $>200$  mg/dl) yang ditentukan dengan metode GOD-PAP dan dinyatakan dalam mg/dl.

2. Kontrol :

Penderita sakit gigi di kamar terima Klinik FKG Unair yang bukan penderita DM yang diketahui dari anamnesis dan didukung oleh kadar HbA1c  $< 6\%$ .

3. Kadar HbA1c :

Banyaknya kadar Hb yang mengalami glikosilasi yang ditentukan dengan metode *Radio Immuno Assay* (RIA) yang dinyatakan dalam %.

4. IFN-gamma :

Jumlah IFN-gamma yang dihasilkan oleh limfosit dalam serum setelah dirangsang dengan Concanavalin A (Con A) yang dinyatakan dalam pg/ml.

5. IL-10 :

Jumlah IL-10 yang dihasilkan oleh limfosit setelah dirangsang dengan Con A yang dinyatakan dalam pg/ml.

6. Infeksi *C.albicans* rongga mulut :

Pertumbuhan *C.albicans* yang ditandai dengan adanya koloni yang tumbuh pada media pembenihan dari *oral swab* setelah inkubasi 2 x 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .

7. Sel imunokompeten mukosa mulut :

Sel sistem imun yang berkompeten dalam respons imun mukosa mulut (limfosit, sel plasma, PMN, MO, monosit dan eosinofil) yang diperoleh dari *scrapping* epitel mukosa pipi dan dinyatakan dalam jumlah sel per lapang pandang. Hasil perhitungan selanjutnya ditransformasi dengan tg.

8. Pola imunopatobiologis :

Suatu model komplementasi dari berbagai variabel dominan yang menunjukkan efektifitas dari variabel dominan terhadap kejadian imunopatobiologis (Putra, 1990).

#### 4.7 Prosedur Penelitian

Penderita DM yang datang ke Poli Endokrinologi RSUD Soetomo Surabaya diseleksi sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan yaitu : Penderita laki-laki dan menderita DM minimal 2 tahun sejak didiagnosis serta tidak terdapat penyakit lain selain DM. Kriteria yang lain adalah berusia antara 40 - 60 tahun, tidak merokok, tidak memakai gigi palsu dan tidak sedang menggunakan antibiotik dan steroid.

Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan rongga mulut untuk mengetahui OH. Penderita yang dipilih adalah yang termasuk dalam kriteria OH baik ( $OHI = 0,1 - 1,2$ ) dan OH sedang ( $OHI = 1,3 - 2,0$ ), kemudian diberi penjelasan tentang keperluan penelitian ini. Bila bersedia ikut serta dalam penelitian ini, maka penderita diminta untuk menandatangani *inform consent* sebagai bukti kesediaan tersebut. Selanjutnya, dilakukan pengambilan darah vena sebanyak 3 ml oleh analis medis.

Satu (1) ml dimasukkan ke dalam tabung EDTA untuk pemeriksaan HbA1c dan 2 ml dimasukkan ke dalam tabung heparin untuk pemeriksaan limfosit dalam hal ini sitokin.

Selain itu, juga dilakukan *cotton swab* pada dorsal lidah, kemudian di *strick* pada media *sabouraud agar* yang telah disediakan untuk melihat ada tidaknya pertumbuhan *C.albicans* setelah diinkubasi 2 x 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian dilakukan *scrapping* pada mucosa pipi dan dibuat sediaan pada object glass. Selanjutnya difiksasi dengan aseton untuk pemeriksaan limfosit, sel plasma dan sel radang pada daerah tersebut.

#### 4.7.1 Pertumbuhan *C.albicans*

Dilakukan hapusan dengan *cotton swab* pada dorsal lidah kemudian ditanam pada media *sabouraud dextrose agar* yang telah disediakan. Selanjutnya diinkubasi 2 x 24 jam pada suhu 37°C dan diamati ada tidaknya koloni yang tumbuh (gambar 5.3).

#### 4.7.2 Pemeriksaan HbA1c

Sampel darah dalam tabung EDTA sebanyak 1 ml selanjutnya dikirim ke lab. klinik Prodia jalan Bogowonto Surabaya untuk pemeriksaan HbA1c.

Cara Kerja :

Darah + EDTA dipipet sebanyak 2 µg dengan pipet yang bekerja secara otomatis yang merupakan rangkaian dari alat bio-rad Diastat dan sudah menyimpan 1000 µ hemolisa (*kit*) kemudian dimasukkan ke dalam *cup* sampel. Selanjutnya diletakkan pada *weel* Diastat sesuai dengan nomor *weel* yang tersedia. Selanjutnya alat diprogram dengan start selama 10 menit dan hasil akan terbaca pada *print out*.

#### 4.7.3 Pemeriksaan sitokin

Sampel darah dalam tabung heparin sebanyak 2 ml selanjutnya dikirim ke lab. Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Cara Kerja :

1. Sampel darah dan heparin sebanyak 2 ml dimasukkan dalam tabung.
2. Tambahkan 2 ml RPMI
3. Tambahkan 2,5 ml *Ficoll Hypaque*
4. Putar selama 15 menit/1000 g
5. Hasilnya akan terjadi pemisahan antara plasma, *buffi coat*, *ficoll Hypaque* dan RBC.
6. Pisahkan *buffi coat*
7. Cuci 2 x dengan RPMI
8. Resuspensi dalam *fetal bovine serum* (FBS)
9. Hitung limfosit dengan hemositometer
10. Ambil limfosit  $1 \times 10^6$  per ml
11. Tambahkan Con.A ( $\mu\text{g/ml}$ )
12. Inkubasi pada suhu  $37^\circ \text{C}$  selama 48 jam,  $\text{CO}_2$  5%
13. Putar selama 15 menit/1000 g
14. Ambil supernatan dan simpan pada suhu  $-20^\circ \text{C}$  hingga seluruh sampel terkumpul.

##### a. Pemeriksaan kadar IFN-gamma

Cara Kerja :

Kit ELISA yang digunakan adalah *Biosource International Cytocreen Immunoassay Kit* dengan nomor katalog : KHC 4022 Human IFN-gamma.

1. Lempengan mikrotiter dari polistiren yang dilapisi dengan antibodi spesifik terhadap IFN-gamma, ke dalam setiap sumuran ditambahkan 100  $\mu$ l larutan dapar pengencer sebagai kontrol, kemudian 100  $\mu$ l supernatan dari limfosit yang telah dirangsang dengan Concanavalin A (Con A) dan 100  $\mu$ l pengenceran dari larutan standar IFN-gamma kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C.
  2. Dengan dapar pencuci, dicuci 3 x kemudian ditambahkan Antibodi II yaitu anti-IFN-gamma yang dilabel dengan biotin, diinkubasi selama 40 menit.
  3. Cuci 4 x dengan larutan dapar pencuci kemudian tambahkan dengan 100  $\mu$ l larutan conjugate streptavidin-HRP, kemudian inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
  4. Tambahkan 100  $\mu$ l substrat berupa larutan kromogen TMB, inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan larutan akan berwarna biru.
  5. Tambahkan *stipping solution*, warna larutan berubah menjadi kuning oranye.
  6. Dengan menggunakan Elisa reader, baca pada Lambda 450 nanometer.
- b. Pemeriksaan kadar IL-10

Cara kerja :

Kit ELISA yang digunakan adalah *Biosource International Cytocreen Immunoassay Kit* dengan nomor katalog : KHC0102 Human IL-10.

1. Lempengan mikrotiter dari polistiren yang dilapisi dengan antibodi spesifik terhadap IL-10, ke dalam setiap sumuran ditambahkan 100  $\mu$ l larutan dapar pengencer sebagai kontrol, kemudian 100  $\mu$ l supernatan dari



- limfosit yang telah dirangsang dengan Con A dan 100  $\mu$ l pengenceran dari larutan standar IL-10 kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C.
2. Dengan dapar pencuci, dicuci 3 x kemudian ditambahkan antibodi II yaitu anti IL-10 yang dilabel dengan biotin, diinkubasi selama 40 menit.
  3. Cuci 4 x dengan larutan dapar pencuci kemudian tambahkan dengan 100  $\mu$ l larutan conjugate streptavidin-HRP, kemudian inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
  4. Tambahkan 100  $\mu$ l substrat berupa larutan kromogen TMB, inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan larutan akan berwarna biru
  5. Tambahkan *stipping solution*, warna larutan berubah menjadi kuning oranye
  6. Dengan menggunakan *Elisa Reader*, baca pada lambda 450 nanometer.

#### 4.7.4 Pemeriksaan sel imunokompeten mukosa mulut

Untuk pemeriksaan sel imunokompeten dilakukan kerokan pada mukosa pipi dan langsung diletakkan pada objek glas dan difiksasi dengan aseton selama 10 menit. Selanjutnya dikirim ke Lab Patologi Anatomi FK Unair untuk dilakukan pengecatan Papaniculou, kemudian diamati di bawah mikroskop (Olympus) untuk menghitung jumlah sel limfosit (gambar 5.4), sel plasma (gambar 5.5), PMN (gambar 5.6), makrofag (gambar 5.7), monosit (gambar 5.8) dan eosinofil (gambar 5.9) per lapang pandang dengan pembesaran 400 x.

## 4.8 Tempat dan Waktu Penelitian

### 4.8.1 Tempat penelitian

Pengambilan sampel penderita DM dilaksanakan di Poli Endokrinologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya, sedang untuk kontrol non-DM diambil dari kamar terima Klinik FKG Unair dengan kriteria yang sama dengan kelompok DM. Untuk pemeriksaan HbA1c dilakukan di Lab. Klinik Prodia Surabaya dan sitokin sistemik (IFN-gamma dan IL-10) dilakukan di Lab Patologi Klinik (PK) RSUD Dr. Soetomo Surabaya serta pemeriksaan sitologi dilakukan di Lab PA FK Unair.

### 4.8.2 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan selama kurang lebih 9 bulan (Februari-Oktober 1998)

## 4.9 Analisis Statistik

Rancangan analisis statistik dilakukan dalam tiga tahap :

1. Uji normalitas untuk mengetahui apakah data yang diperoleh berasal dari populasi dengan distribusi normal.
2. Uji Anova untuk melihat perbedaan setiap variabel baik lokal maupun sistemik antara kelompok DM dan infeksi, DM tanpa infeksi, kontrol dan infeksi dan kontrol tanpa infeksi *C.albicans*
3. Uji Manova untuk melihat perbedaan kadar IFN-gamma, IL-10 dan sel imunokompeten mukosa mulut antara kelompok DM dan infeksi *C.albicans* rongga mulut dengan DM tanpa infeksi *C.albicans*, kontrol dan infeksi *C.albicans* dan kontrol tanpa infeksi *C.albicans*.
4. Analisis diskriminan untuk mengidentifikasi variabel pembeda yang dominan di antara semua kelompok sampel.

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

#### 5.1 Sampel

Sampel penderita DM dalam penelitian ini diperoleh dari penderita DM yang berobat ke Poli Endokrinologi RSUD Dr Soetomo Surabaya, dengan pertimbangan bahwa secara epidemiologis penderita mempunyai status sosial yang sama. Dengan demikian diharapkan bahwa faktor sosial yang mungkin berpengaruh terhadap respons imun yang mengganggu variabel dapat dikurangi.

Dari 49 penderita DM yang dipilih sebagai sampel, hanya 20 yang memenuhi kriteria untuk dianalisis yaitu, 10 sampel dengan HbA1c > 8% dan infeksi *C.albicans*, dan 10 sampel dengan HbA1c > 8% tanpa infeksi *C.albicans*. Sedang 29 sampel lainnya dieksklusi dengan beberapa alasan antara lain, kadar HbA1c < 8%, serum kontaminasi dengan mikroorganisme dan serum dalam keadaan lisis.

Adapun kontrol diperoleh dari penderita yang memeriksakan giginya di kamar terima Klinik FKG Unair dengan kriteria yang sama dengan kelompok DM. Dari 24 sampel kontrol yang dipilih, hanya 20 yang memenuhi kriteria untuk dianalisis, dengan perincian 10 kontrol dengan infeksi *C.albicans* dan 10 kontrol tanpa infeksi *C.albicans*. Sedang 4 kontrol lainnya tidak dianalisis karena 2 diantaranya HbA1c > 6% dan 2 lainnya kontaminasi, sehingga jumlah sampel seluruhnya yang dianalisis adalah 40 (lampiran 1).

Adapun deskripsi sampel secara keseluruhan pada setiap kelompok digambarkan dalam tabel 5.1 sebagai berikut :

Tabel 5.1 Deskripsi sampel menurut kelompok

Kelompok	Inf <i>C.alb</i>	Tanpa Inf <i>C.alb</i>	Total
DM (HbA1c > 8%)	10	10	20
Kontrol (HbA1c < 6%)	10	10	20
Total	20	20	40

## 5.2 Uji Normalitas dan Keacakan

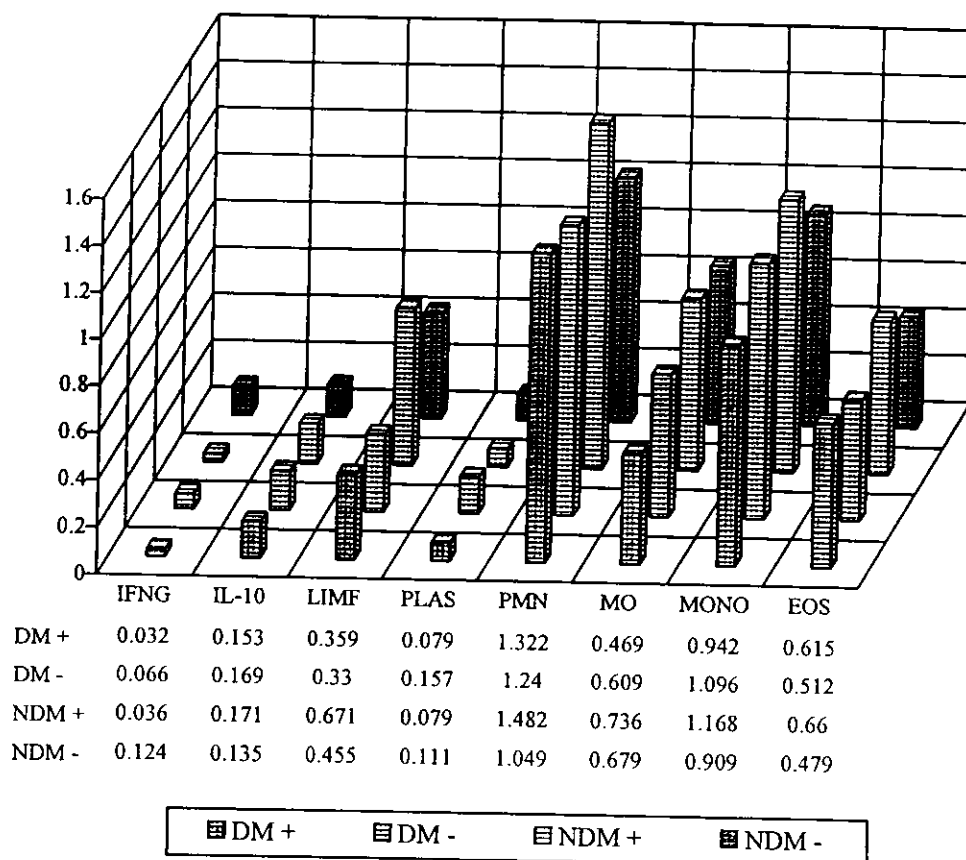
Untuk mengetahui apakah data yang didapat berasal dari populasi dengan distribusi yang normal, maka dilakukan uji normalitas dan keacakan dengan uji *independency*, *identically* dan *normality* dengan rerata 0 dan varian 1. Hasilnya menunjukkan data yang diperoleh berasal dari populasi normal dan acak (lampiran 2), sehingga dapat dilakukan uji anova dan manova.

Adapun harga rerata dan simpang baku dari setiap variabel pada kelompok DM dan kontrol tampak pada tabel berikut :

Tabel 5.2 Nilai rerata dan simpang baku setiap variabel pada kelompok DM dan kontrol.

Kelompok	DM				Kontrol			
	Inf <i>C.alb</i> n = 10 A1		Tanpa Inf <i>C.alb</i> N = 10 A2		Inf <i>C.alb</i> n = 10 B1		Tanpa Inf <i>C.alb</i> n = 10 B2	
	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
Sistemik:								
IFN-gamma	.032	.016	.066	.044	.036	.027	.124	.079
IL-10	.153	.086	.169	.161	.171	.151	.135	.077
Lokal:								
Limfosit	.359	.582	.330	.551	.671	.613	.455	.607
Sel plasma	.079	.248	.157	.331	.079	.248	.111	.350
PMN	1.322	.470	1.240	.467	1.482	.061	1.049	.725
MØ	.469	.630	.609	.560	.736	.658	.679	.724
Monosit	.942	.524	1.096	.463	1.168	.430	.909	.640
Eos	.615	.675	.512	.668	.660	.669	.479	.621

Nilai rerata dari setiap variabel tersebut di atas dapat digambarkan dalam grafik sebagai berikut :



Gambar 5.1 Grafik rerata setiap variabel sistemik dan lokal pada setiap kelompok

### 5.3 Analisis Respons Imun Sistemik

Uji Perbedaan Antara Kelompok DM dan infeksi *C.albicans* dengan DM tanpa infeksi *C.albicans*, Kontrol dan infeksi *C.albicans* dan kontrol tanpa infeksi *C.albicans*.

Perbedaan perubahan respons imun sistemik antara kelompok DM dan infeksi *C.albicans* dengan DM tanpa infeksi *C.albicans*, Kontrol dan infeksi *C.albicans* dan kontrol tanpa infeksi *C.albicans* digambarkan dalam tabel 5.3 sebagai berikut :

Tabel 5.3 Uji Manova perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 pada 4 (empat) kelompok sampel dengan n setiap kelompok = 10

	A1	A2	B1	B2
A1	-	F = 0,086 p > 0,05	F = 0,752 p > 0,05	-
A2	F = 0,086 p > 0,05	-	-	F = 0,044 p < 0,05
B1	F = 0,752 p > 0,05	-	-	F = 0,005 p < 0,05
B2	-	F = 0,044 p < 0,05	F = 0,005 p < 0,05	-

Keterangan :

A1 = DM dan infeksi *C.albicans*

A2 = DM tanpa infeksi *C.albicans*

B1 = Kontrol Non-DM dan infeksi *C.albicans*

B2 = Kontrol Non-DM tanpa infeksi *C.albicans*

#### 5.4 Analisis Respons Imun Mukosa Mulut

Uji perbedaan respons imun mukosa mulut antara kelompok DM dan infeksi *C.albicans*, DM tanpa infeksi *C.albicans*, Kontrol dan infeksi *C.albicans* dan kontrol tanpa infeksi *C.albicans*.

Perbedaan perubahan respons imun mukosa mulut antara penderita DM dan infeksi *C.albicans*, DM tanpa infeksi *C.albicans*, kontrol dan infeksi *C.albicans* dan kontrol tanpa infeksi *C.albicans* digambarkan dalam tabel 5.4 sebagai berikut :

Tabel 5.4 Uji manova perbedaan jumlah sel imunokompeten mukosa mulut pada 4 (empat) kelompok sampel dengan n setiap kelompok = 10

	A1	A2	B1	B2
A1	-	F = 0,750 p > 0,05	F = 0,699 p > 0,05	-
A2	F = 0,750 p > 0,05	-	-	F = 0,905 p > 0,05
B1	F = 0,699 p > 0,05	-	-	F = 0,947 p > 0,05
B2	-	F = 0,905 p > 0,05	F = 0,947 p > 0,05	-

Keterangan :

A1 = DM dan infeksi *C.albicans*

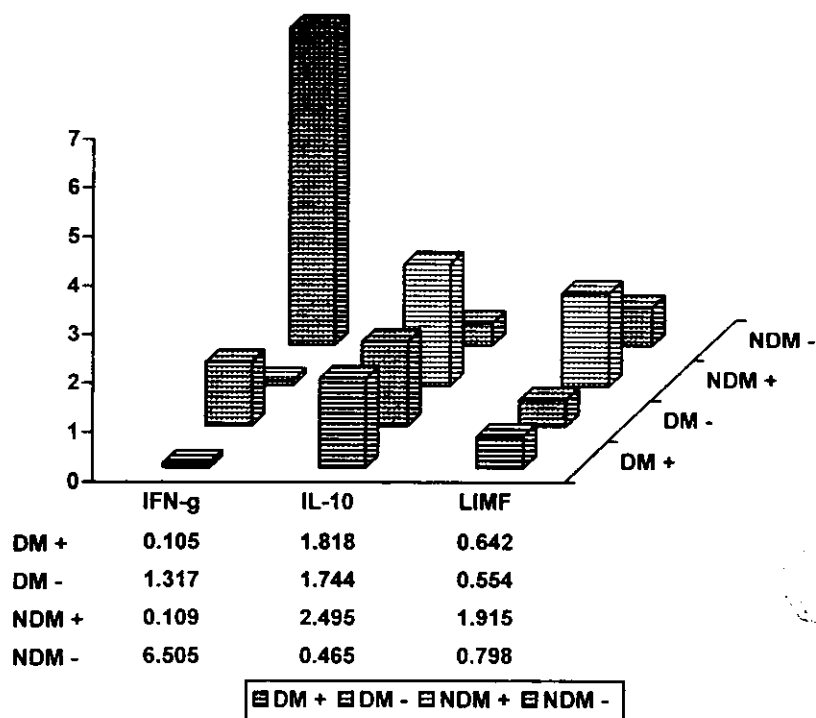
A2 = DM tanpa infeksi *C.albicans*

B1 = Kontrol Non-DM dan infeksi *C.albicans*

B2 = Kontrol Non-DM tanpa infeksi *C.albicans*

### 5.5 Pola Imunopatobiologis

Untuk membuat pola imunopatobiologis dilakukan perkalian harga rerata dari variabel dengan suatu konstanta yang mencerminkan berapa besar peran dari setiap variabel tersebut. Dari analisis diskriminan diperoleh tiga variabel yang dominan yaitu IFN-gamma, IL-10 dan limfosit yang digambarkan dalam bentuk pola imunopatobiologis sebagai berikut :

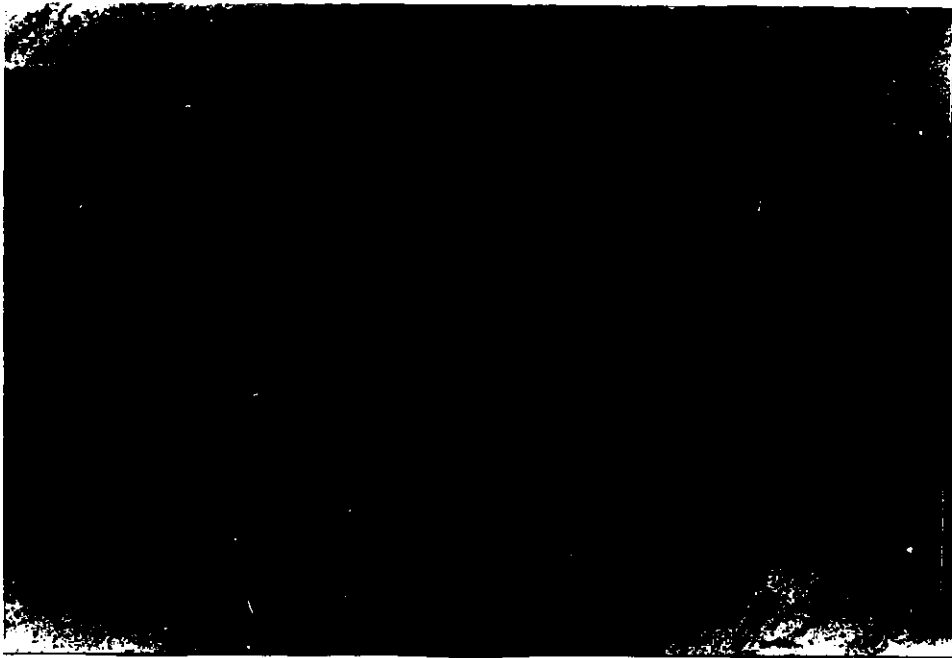


Gambar 5.2 Pola imunopatobiologis pada kelompok penderita DM dan kontrol. Sumbu x merupakan deretan variabel pembeda, sedang sumbu y merupakan besaran abstrak yang mencerminkan efektivitas dari setiap variabel pembeda.

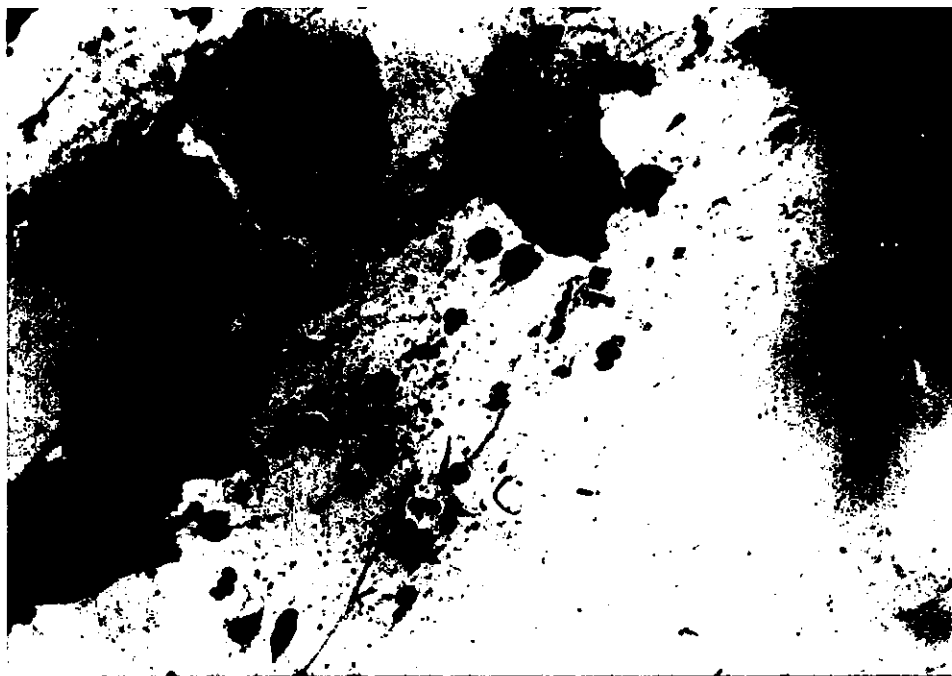


Gambar 5.3 Koloni Jamur *C.albicans* pada media sabouraud dextrose agar





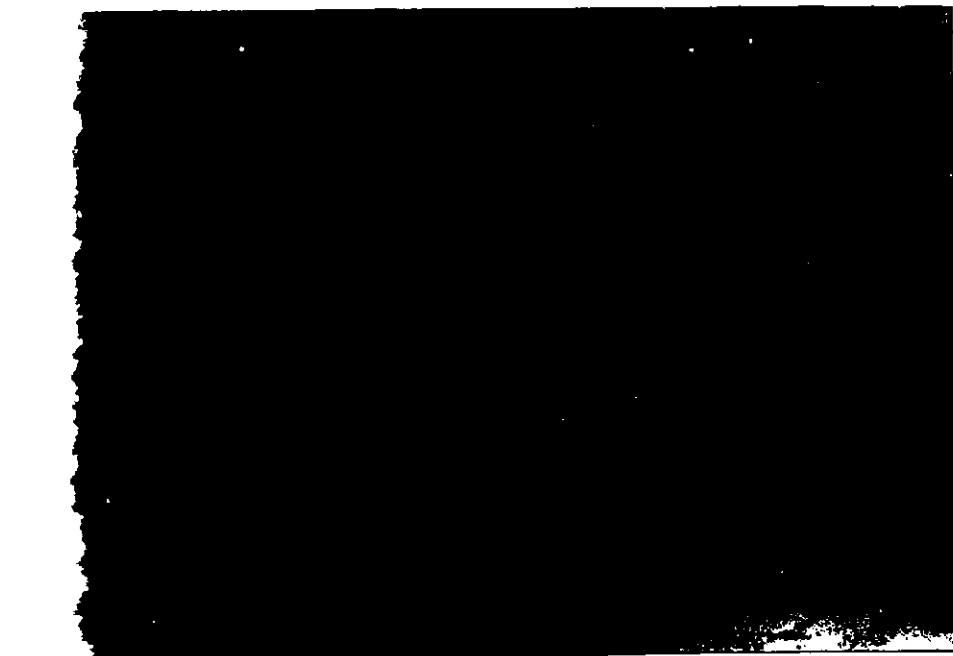
Gambar 5.4 Limfosit (foto LM : 400 x)  
sediaan no : 10-4



Gambar 5.5 Sel plasma (foto LM : 400 x)  
sediaan no : 10-4



Gambar 5.6 Sel PMN (foto LM : 400 x)  
sediaan no : 38-1



Gambar 5.7 Sel makrofag (foto LM : 400 x)  
sediaan no : 57-6



Gambar 5.8 Monosit/histiosit (foto LM : 400 x)  
sediaan no : 10-4



Gambar 5.9 Sel Eosinofil (foto LM : 400 x)  
sediaan no : 14-10

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pembahasan

Penelitian ini dirancang untuk mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut pada penderita DM. Untuk itu digunakan rancangan penelitian *observasional cross sectional* yang dilakukan pada penderita DM. Penelitian ini dilakukan pada manusia mengingat bahwa pada hewan coba yang dibuat DM dengan suatu bahan (*aloxan* atau *streptozotocyne*), akan menyebabkan kerusakan sel beta pankreas, yang berarti bahwa DM yang terjadi adalah DM tipe I.

Oleh karena perubahan respons imun pada DM dalam penelitian ini beranjak dari konsep glikosilasi yang meningkat yang ditandai dengan kadar HbA1c yang tinggi (> 8%), maka perubahan respons imun dapat terjadi baik pada DM tipe I maupun tipe II. Namun demikian pada akhirnya seluruh sampel dalam penelitian ini termasuk DM tipe II, karena merupakan kelompok yang paling banyak (95%) dalam populasi (McMahon, 1995).

Selain itu, Infeksi *C.albicans* tidak selalu disertai gejala klinis termasuk bentuk *hyphae*, maka yang diamati adalah keberadaan *C.albicans* melalui kultur. Untuk itu, maka penelitian ini dirancang dalam 4 kelompok, yaitu kelompok DM HbA1c > 8% dan infeksi *C.albicans* (A1), Kelompok DM HbA1c > 8% tanpa infeksi *C.albicans* (A2), kelompok kontrol Non-DM HbA1c < 6% dan infeksi *C.albicans* (B1) dan kontrol Non-DM HbA1c < 6% tanpa infeksi *C.albicans* (B2).

Oleh karena peningkatan glikosilasi ditentukan melalui peningkatan kadar HbA1c yang diamati dari serum, maka perubahan respons imun juga diamati dari

serum yang ditentukan oleh kadar IFN-gamma dan IL-10. Selain itu mengingat infeksi *C.albicans* yang diamati adalah dalam rongga mulut, dan berbagai hasil penelitian imunologis menunjukkan bahwa respons imun lokal lebih mencerminkan perubahan biologis yang terjadi di daerah yang mengalami jejas (Putra, 1997), maka dilakukan pemeriksaan sel imunokompeten (limfosit, sel plasma, PMN, MØ, monosit dan eosinofil) dari *scrapping* epitel mukosa mulut. Dengan demikian dapat diduga bahwa kadar HbA1c yang tinggi menyebabkan menurunnya respons imun pada penderita DM yang dicerminkan oleh variabel tersebut di atas.

Oleh karena itu, model berfikir yang digunakan dalam penelitian ini adalah paradigma patobiologi yang berkonsep imunopatobiologis, yaitu suatu cara atau model berfikir yang berdasar pada perubahan biologis yang tidak lazim dan terjadi sebagai akibat dari tubuh yang berinteraksi dengan lingkungan yang merusak (Hill, 1980).

Untuk memenuhi persyaratan agar diperoleh hasil penelitian yang akurat dengan validitas yang tinggi, maka pada data penelitian ini dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui apakah populasi penelitian ini bersifat homogen, yaitu uji homogenitas dengan anova dan ternyata sampel penelitian ini adalah homogen (lampiran 2).

Pembahasan hasil penelitian ini memberikan penafsiran lebih lanjut tentang data yang telah dilaporkan dan dianalisis. Pembahasan ini dimaksudkan untuk menjawab permasalahan sehingga tujuan penelitian ini dapat tercapai.

Pada penelitian ini digunakan 8 variabel : 2 variabel sistemik, yaitu IFN-gamma dan IL-10 untuk mengetahui stabilitas sistem imun secara umum dan 6 variabel sel sistem imun mukosa mulut.

Diabetes mellitus merupakan suatu kelainan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia dan erat kaitannya dengan kejadian infeksi. Salah satu infeksi yang sering mengenai mukosa rongga mulut penderita DM adalah infeksi yang disebabkan oleh jamur *C.albicans*. Infeksi ini terjadi pada kondisi di mana respons imun *host* menurun. Pada penderita DM penurunan respons imun dimungkinkan karena keadaan hiperglikemia akan meningkatkan glikosilasi non-enzimatik yang ditandai dengan meningkatnya kadar HbA1c. Hal ini disebabkan ikatan kovalen glukosa dapat merubah struktur dan fungsi protein termasuk imunoglobulin yang memberi kontribusi terhadap berbagai komplikasi DM termasuk infeksi (Sasaki, 1993).

Dalam proses glikosilasi akan terjadi tahapan perubahan, yaitu : Pembentukan *Amadori product*, penyebaran reaksi glikosilasi dan pembentukan AGE (Sternberg, 1995). Menurut Nawroth (1999), AGE merupakan suatu pendekatan baru dalam biokimia dan biologi molekuler dalam mengungkap patofisiologi berbagai penyakit kronis akibat komplikasi DM. Walaupun pada tahap awal proses glikosilasi pembentukan *Schiff base* atau *Amadori product* masih bersifat *reversible*, tetapi cenderung untuk membentuk kompleks molekuler (Chappey, 1997) yang *irreversible* sehingga terbentuk *advanced glycation end product* (AGE) yang memberikan efek patogenik melalui interaksi dengan reseptor seluler yang spesifik (Lalla, 1998). Hal ini disebabkan karena AGE akan merangsang pembentukan reaksi silang yang menyebabkan perubahan sifat biofisik protein dengan cara

meningkatkan kekakuan fibrous preotein dan resistensi terhadap protease (Sterberg, 1995; Nawroth, 1999).

Selain itu, gangguan fungsi seluler AGE dapat mempengaruhi ekspresi gen dan peningkatan polipeptida. Hal ini dimungkinkan karena interaksi AGE dengan suatu reseptor akan meningkatkan oksidatif stress intraselluler dan menyebabkan aktivasi faktor transkripsi (NF-kappa B) dan selanjutnya berpengaruh pada ekspresi gen (Chappey, 1997; Nawroth, 1999).

Pada penelitian ini tampak pada kedua kelompok DM terjadi penurunan respons imun sistemik yang dicerminkan oleh menurunnya kadar IFN-gamma (gambar 5.1). Tetapi setelah dilakukan uji statistik dengan multivariat, menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok DM dan infeksi dengan tanpa infeksi *C.albicans* dengan F Wilks = 0,086, yang berarti  $p > 0,05$  (lampiran 3).

Berdasarkan hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa penderita DM sudah terjadi penurunan respons imun akibat glikosilasi yang tinggi sebagai imunogen, sehingga pengaruh keberadaan *C.albicans* terhadap perubahan respons imun tidak terlalu berpengaruh lagi. Walaupun hasil uji multivariat tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna, tetapi bila yang diamati hanya peran IFN-gamma, maka hasil uji univariat menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok DM infeksi dan tanpa infeksi *C.albicans* dengan  $F = 0,033$  ( $p < 0,05$ ) (lampiran 3).

Kerentanan untuk terjadi komplikasi termasuk infeksi pada penderita DM tampaknya tidak hanya ditentukan oleh kadar glukosa darah yang tidak terkontrol dengan baik, akan tetapi juga dipengaruhi oleh faktor genetik yang bervariasi

termasuk tipe HLA (Ardawi, 1994). Selain itu, Plotkin (1996), melaporkan pula bahwa meningkatnya kerentanan terhadap infeksi *C.albicans* pada penderita DM adalah akibat penekanan fungsi primer dari fagosit. Selanjutnya dijelaskan bahwa mekanisme penekanan tersebut dapat disebabkan oleh faktor genetik yang abnormal yang berpengaruh pada mekanisme *killing* dari fagosit, atau akibat lingkungan metabolik yang abnormal yang berkaitan dengan status DM.

Adanya heterogenitas dalam kelas molekul AGE, baik yang terdapat dalam plasma, sel, maupun jaringan (Chappey, 1997) serta perbedaan dalam respons individu terhadap AGE, akan menyebabkan perbedaan dalam perkembangan komplikasi DM. Hal ini ditunjukkan oleh adanya perbedaan bentuk ikatan protein, termasuk aktivitas monosit dan makrofag serta imunopotensi dari epitop yang terbentuk (Weiss, 1998). Menurut Sternberg (1995), ada beberapa AGE yang telah diisolasi dan diidentifikasi yaitu : ikatan pirlalin terhadap satu asam amino, ikatan pentosidin terhadap dua asam amino dan pembentukan reaksi silang diantara rantai peptida.

Akumulasi AGE dalam jaringan akan meningkat dengan meningkatnya usia. Kadar glukosa darah pada usia lanjut akan meningkatkan AGE. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa penderita usia lanjut dengan DM terdapat akumulasi AGE yang meningkat (Chappey, 1997; Nawroth, 1999). Peningkatan akumulasi AGE tersebut akan merangsang perubahan pada struktur jaringan yang bersifat permanen (*irreversible*) dan mengakibatkan fungsi berbagai komponen matriks ekstraseluler terganggu, merangsang produksi sitokin dan radikal bebas serta merubah struktur protein intraseluler (Brownlee, 1995).



Sitokin sebagai proinflamatori merangsang gangguan fungsi sel beta dan berperan sebagai mediator terjadinya kematian sel beta pancreas melalui apoptosis (Rabinovitch, 1999).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa respons imun pada kelompok Kontrol + infeksi *C.albicans* menurun dan terdapat perbedaan yang sangat bermakna dengan kontrol tanpa infeksi *C.albicans* dengan nilai F Wilks = 0,005 yang berarti  $p < 0,05$  (Tabel 5.3). Hal ini menggambarkan bahwa keberadaan *C.albicans* juga berperan sebagai imunogen. Hal ini didukung oleh Zegarelli (1993), bahwa infeksi *C.albicans* rongga mulut terjadi pada *host* dengan kondisi *immunocompromice* baik lokal maupun sistemik. Selanjutnya dikatakan bahwa infeksi *C.albicans* sendiri dapat menekan sistem imun *host*. Hal ini dimungkinkan karena *C.albicans* sebagai mikroorganisme intraseluler terdapat pada makrofag sehingga mengganggu fungsi makrofag tersebut sebagai APC. Adapun pada kelompok kontrol tanpa infeksi *C.albicans*, rerata kadar IFN-gamma = 0,124 dan IL-10 = 0,135. Hal ini menunjukkan bahwa kadar IFN-gamma dan IL-10 berada dalam batas keseimbangan. Hal ini sesuai pula dengan landasan teori yang digunakan bahwa stabilitas sistem imun ditentukan oleh keseimbangan IFN-gamma dan IL-10 (Hamblin, 1993).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa respons imun penderita DM tanpa infeksi *C.albicans* menurun dan terdapat perbedaan yang bermakna dengan kontrol tanpa infeksi *C.albicans* dengan nilai F Wilks = 0,044 yang berarti  $p < 0,05$  (Tabel 5.3). Hal ini dimungkinkan karena hasil proses glikosilasi yang tinggi, ditandai dengan kadar HbA1c yang tinggi menyebabkan fungsi makrofag yang terganggu.

Menurut Grossi & Genco (1998), suatu infeksi diperantarai oleh siklus yang tidak terkontrol dari sintesis dan sekresi sitokin akibat rangsangan kronis dari imunogen termasuk produk mikroorganisma, dan hal ini juga dapat menjelaskan pentingnya AGE terhadap respons sitokin pada penderita DM. Tentang hubungan sitokin dengan infeksi *C.albicans*, ternyata disebabkan oleh respons IFN-gamma *host* yang tidak cukup (Szaradkiewics, 1998), karena IFN-gamma lebih superior daripada G-CSF atau GM-CSF untuk meningkatkan aktivitas mikrobisidal PMN terhadap jamur oportunistik (Gaviria, 1999).

Penelitian tentang kadar sitokin penderita DM dengan penyakit periodontal menunjukkan bahwa menurunnya kadar IFN-gamma menggambarkan rendahnya respons Th1 dan meningkatnya kadar IL-10 menggambarkan adanya penekanan pada respons imun dan respons inflamasi (Gemmel & Seymour, 1998).

Hasil studi tentang infeksi *C.albicans* pada murin menunjukkan bahwa resistensi terhadap penyakit tersebut berhubungan dengan respons Th1 yaitu IFN-gamma (Lavigne, 1998).

Dalam penelitian ini juga tampak kadar IFN-gamma lebih rendah pada kelompok DM, baik infeksi *C.albicans* maupun tanpa infeksi *C.albicans* dan kontrol dan infeksi *C.albicans*, dan seimbang dengan kadar IL-10 pada kelompok kontrol non-DM tanpa infeksi *C.albicans* (Gambar 5.1).

Dalam penelitian ini perhatian difokuskan pada sampel yang mengandung kultur positif dari hapusan mukosa, dan tidak diamati adanya infeksi *C.albicans* secara klinis. Hal ini disebabkan karena pada kondisi tersebut sudah terjadi infeksi tetapi belum menimbulkan manifestasi klinis sehingga belum mendapat perhatian bagi peneliti. Pertimbangan lain adalah karena jumlah kasus infeksi yang manifes

kurang, sehingga hanya diamati ada tidaknya pertumbuhan *C.albicans* pada media pembedihan (gambar 5.3). Hal ini didukung oleh Willis (1999), bahwa 40% penderita DM karier *C.albicans* tanpa gejala klinis, sedang infeksi *C.albicans* yang tampak umumnya hanya berupa eritema. Rodu (1988) juga melaporkan bahwa infeksi *C.albicans* akut yang terjadi pada penderita leukimia, meskipun ditemukan bentuk *pseudohyphae* tetapi tidak disertai gejala klinis dan disebut infeksi akut sub-klinik. Hal ini didukung pula oleh Bergman (1996), bahwa bentuk *pseudohyphae* yang tampak dari *smear* saliva merupakan indikator awal berkembangnya infeksi *C.albicans* akut di rongga mulut. Pertimbangan lain adalah, baik bentuk *yeast* maupun *hyphae* keduanya dapat berinteraksi dengan *host* tergantung pada komposisi protein dinding sel *C.albicans* (Blasi, 1995).

Kurangnya kasus infeksi yang tampak disebabkan karena pengamatan hanya dilakukan secara visual, sehingga kurang sensitif dalam mengamati adanya perubahan atau eritema pada mukosa. Untuk itu pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengamatan dengan menggunakan alat yang lebih sensitif berupa *Erythema Meter*, yaitu suatu alat dengan prinsip bahwa Hb secara selektif menyerap warna hijau lebih banyak dan sedikit menyerap warna merah, sehingga *Erythema Index* dapat dihitung dengan rumus  $EI = \log \text{merah/hijau}$  (Cross, 1998).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa respons imun sistemik pada penderita DM dan infeksi *C.albicans* dan kontrol dan infeksi *C.albicans* menurun yang dicerminkan oleh menurunnya kadar IFN-gamma (Gambar 5.1), tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna dengan nilai  $F = 0,752$  dimana  $p > 0,05$  (Tabel 5.3), ini menunjukkan bahwa, *C.albicans* juga berperan sebagai imunogen. Hal ini

dimungkinkan karena komponen dinding sel *C.albicans* juga terdiri dari struktur protein yaitu, mannoprotein, glukukan dan khitin yang merupakan faktor virulensi.

Selain itu, *C.albicans* juga menghasilkan toksin yang dapat merusak permukaan jaringan *host* sehingga memungkinkan untuk mengadakan invasi ke dalam jaringan. Menurut Sepulveda (1996) pada eukariota tingkat tinggi termasuk *C.albicans* mengandung suatu polipeptida yaitu, "ubiquitin" yang berperan penting dalam modifikasi ataupun degradasi protein, transkripsi gen, organisasi struktur kromatin dan resistensi terhadap stres. Hal ini berhubungan dengan jenis protein permukaan dinding sel *C.albicans* termasuk perbedaan molekul reseptor, karena sejumlah komponen permukaan dinding sel jamur mempunyai aktivitas sebagai reseptor yang memperantarai ikatan sel jamur terhadap sel *host*.

Hasil penelitian invitro menunjukkan bahwa perlekatan *C.albicans* pada mukosa dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain : mukosa sel donor, waktu pengambilan sel mukosa, tempat asal mukosa dan ukuran sel serta viabilitas mukosa (Olsen, 1990). Walaupun mekanisme yang pasti yang mendasari tingginya kejadian infeksi *C.albicans* pada penderita DM belum diketahui dengan jelas, tetapi hasil penelitian menunjukkan bahwa hal ini disebabkan karena perubahan respons imun *host* dan faktor virulensi dari *C.albicans* (Plotkin, 1996).

Walaupun informasi yang menggambarkan respons inflamasi dan mekanisme pertahanan *host* pada infeksi *C.albicans* sangat terbatas (William, 1997; Leigh, 1998), namun dalam penelitian ini menunjukkan bahwa sel imunokompeten mukosa mulut yang paling dominan adalah PMN (Lampiran 1). Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang menunjukkan bahwa respons yang paling awal berperan terhadap infeksi *C.albicans* adalah PMN dan makrofag (Plotkin, 1996).

Quirino (1995) melaporkan hasil studi tentang manifestasi *oral* penderita DM yang menunjukkan tidak ada lesi ataupun perubahan yang patognomik yang berhubungan dengan penyakit tersebut, tetapi lesi kandidiasis yang tampak berupa eritema maupun proliferasi disebabkan karena pemakaian protesis (gigi palsu) penuh. Selain itu, Darwazeh (1997) melaporkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna dalam hal reduksi perlekatan *C.albicans* pada epitel mukosa pipi antara penderita DM dan Non-DM setelah pemberian nystatin.

Sel polimorfonuklear (PMN) merupakan pertahanan *host* yang pertama terhadap mikroorganisma, dan pada penderita DM sel ini mengalami perubahan dalam fungsinya sebagai kemotaksis dan fagositosis (Pozzilli & Leslie, 1994). Selain itu, McMahon & Bistran (1995) melaporkan bahwa fungsi PMN sebagai anti bakteri pada penderita DM bervariasi dari normal sampai terganggu, tergantung pada tingkat kontrol glikemia, tipe DM dan kesehatan secara umum.

Pada penderita DM jumlah total limfosit T khususnya pada T *helper* menurun yang menyebabkan rasio CD4/CD8 menurun (Pozzilli & Leslie, 1994), tetapi penelitian tentang karakteristik infiltrasi sel inflamasi pada mukosa mulut dengan kandidiasis kronik hiperplastik menunjukkan bahwa sel yang dominan adalah limfosit T, tetapi hanya terdapat pada 53,9% kasus, sedang limfosit B hanya 8,2% dan makrofag 14,2%. Dalam penelitian ini juga menunjukkan bahwa dari hasil analisis diskriminan variabel mukosa yang paling dominan adalah limfosit, tetapi hanya tampak pada sekitar 40% sampel, sedang sel plasma yang berasal dari limfosit B hanya tampak sekitar 15%. Hal ini didukung oleh William (1997) bahwa, pertahanan mukosa mulut terhadap infeksi *C.albicans* melibatkan reaksi *cell-mediated* termasuk makrofag dan produksi lokal IgA. Dalam penelitian

ini tidak diamati produksi lokal IgA oleh karena sintesis IgA ditentukan oleh sitokin produk Th1 dan Th2.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada perubahan respons imun mukosa mulut antara penderita DM dan infeksi *C.albicans*, DM tanpa infeksi *C.albicans*, kontrol dan infeksi *C.albicans* dan kontrol tanpa infeksi *C.albicans* (Tabel 5.4). Hal ini disebabkan karena baik HbA1c yang meningkat maupun *C.albicans* keduanya berperan sebagai imunogen, atau mungkin karena variabel yang diamati kasar karena berada pada tingkat sel dan bukan pada tingkat molekuler, yang mana hal ini merupakan keterbatasan dalam penelitian ini. Kemungkinan lain adalah perubahan yang terjadi dilokal dalam hal ini rongga mulut sudah terjadi di sistemik, hal mana dapat dicerminkan dalam saliva yang juga merupakan keterbatasan dalam penelitian ini.

Sebagaimana dilaporkan oleh Leigh (1998), bahwa untuk pertahanan *host* terhadap infeksi *C.albicans* mukosa mulut, maka peran CMI lokal yang ditunjukkan oleh kadar sitokin dalam saliva bisa sama atau bahkan lebih penting dibanding dengan sitokin di daerah perifer. Hal ini didukung oleh Chalacombe (1997), bahwa cairan rongga mulut (*oral cavity fluids*) dapat digunakan sebagai marker untuk sistem imun mukosa. Demikian juga yang dilaporkan oleh Darwazeh (1997) bahwa, aktivitas nystatin dalam menghambat perlekatan *C.albicans* pada epitel mukosa pipi kemungkinan dihambat oleh komponen tertentu dari saliva. Selain itu, Bickel (1996) juga melaporkan bahwa ekspresi sitokin terutama IL-1 yang berperan penting untuk mengatur destruksi jaringan dan mediator respons imun lokal.

Selanjutnya, untuk mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* pada penderita DM, maka perlu dilakukan uji diskriminan untuk mendapatkan variabel pembeda yang paling dominan dibuat pola.

Untuk membuat pola imunopatobiologis dalam penelitian ini dilakukan perkalian harga rerata dari variabel pembeda tersebut dengan suatu konstanta yang mencerminkan besarnya peranan dari setiap variabel. Hasil analisis diskriminan menunjukkan bahwa dari 8 variabel dalam penelitian ini ternyata hanya 3 variabel yang dominan untuk membedakan ke-empat kelompok sampel yaitu, IFN-gamma, IL-10 dan limfosit, sehingga pola imunopatobiologis yang tersusun hanya dibentuk oleh 3 variabel (Gambar 5.2). Dalam gambar tersebut tampak bahwa variabel yang paling dominan adalah IFN-gamma. Hal ini menunjukkan bahwa IFN-gamma memberikan efektivitas paling besar dalam hal proteksi terhadap kejadian infeksi *C.albicans*. Hal ini dapat diuraikan pada 4 pola sebagai berikut :

1. Pola A1 digunakan untuk menjelaskan penurunan respons imun pada DM yang menimbulkan kerentanan terhadap infeksi *C.albicans*. Penurunan respons imun ini terjadi oleh karena peningkatan glikosilasi pada DM menyebabkan terbentuknya glucitol lysin yang merupakan bagian penting dari epitop. Oleh karena fungsi makrofag pada DM terganggu sehingga pemicuan terhadap sel T oleh sitokin yang dihasilkan oleh makrofag tidak efektif, maka terjadi penurunan produksi IFN-gamma yang sangat besar. Kondisi ini memicu Th2 untuk melakukan kompensasi melalui produksi IL-10, namun tidak memadai. Hal ini ditunjukkan oleh total limfosit yang masih rendah.
2. Pola A2 digunakan untuk menjelaskan penurunan respons imun pada DM. Pada pola ini terjadi penurunan IFN-gamma meskipun tidak terlalu besar

tetapi tetap tidak seimbang dengan peningkatan IL-10, sehingga total limfosit tetap turun, tetapi masih cukup efektif untuk mencegah infeksi *C.albicans*.

3. Pola B1 digunakan untuk menjelaskan penurunan respons imun pada Non-DM yang rentan terhadap infeksi *C.albicans*. Ternyata ada mekanisme dimana *C.albicans* sendiri dapat menekan fungsi Th1 sehingga menyebabkan penurunan IFN-gamma yang cukup besar dan tidak seimbang dengan peningkatan IL-10 sehingga rentan terhadap infeksi.
4. Pola B2 digunakan untuk menjelaskan *immune surveillance* yang baik pada orang Non-DM yang tidak mengalami infeksi *C.albicans*. *Immune surveillance* yang baik ini terjadi karena pada kondisi tersebut makrofag dalam keadaan fungsi yang baik sehingga pemicuan terhadap sel T khususnya Th1 dapat menghasilkan IFN-gamma yang optimal yang dapat memicu *switching* IgM ke IgG. Dengan demikian IgG dapat membantu fungsi makrofag untuk mengoptimalkan fungsi fagositosis. Hasilnya menunjukkan bahwa orang tersebut tidak mengalami infeksi *C.albicans*.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil yang dilaporkan oleh Kaposzetta (1998), bahwa dari hasil penelitian invitro menunjukkan IFN-gamma berperan penting dalam pertahanan *host* terhadap infeksi *C.albicans*. Hayashi (1998) juga melaporkan bahwa sitokin produk Th1 khususnya IFN-gamma berperan penting dalam proses inflamasi dan destruksi sel beta pankreas pada penderita DM. Hasil penelitian lain juga melaporkan bahwa IFN-gamma adalah sitokin pleiotropik yang memberi implikasi pada mekanisme imunopatogenik penyebab sejumlah inflamasi atau penyakit infeksi (Egwuagu, 1999).



IFN-gamma juga berperan sebagai imunomodulator karena akan mengaktivasi sel inflamasi dan berperan dalam imunitas alami (Cotran, 1999).

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pola dari hasil penelitian ini menunjukkan pada penderita DM terjadi penurunan total limfosit yang ditandai dengan penurunan Th1 dan dibarengi dengan peningkatan Th2 sehingga menyebabkan kerentanan terhadap infeksi *C.albicans*. Hal ini tampak pada kelompok yang mengalami infeksi *C.albicans* terjadi penurunan Th1, sedang DM sendiri sudah menyebabkan penurunan respons imun.

## 6.2 Hasil Temuan

Pada penelitian ini diperoleh hasil temuan sebagai berikut :

1. Pada penderita DM dengan kadar HbA1c yang tinggi terjadi penurunan respons imun.
2. Pada kelompok yang mengalami penurunan respons imun, terdapat *C.albicans* dalam rongga mulut.
3. Interferon-gamma memberikan efektifitas terbesar dalam hal proteksi terhadap kejadian infeksi khususnya *C.albicans* rongga mulut.
4. Imunopatobiogenesis dari penurunan respons imun yang dapat menyebabkan infeksi *C.albicans*.

## BAB 7

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian cross sectional maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ada perbedaan Kadar IFN-gamma dan IL-10 dalam serum antara DM tanpa infeksi *C.albicans* dengan kontrol Non-DM tanpa infeksi *C.albicans*.
2. Tidak ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 dalam serum antara penderita DM infeksi *C.albicans* rongga mulut dengan DM tanpa infeksi *C.albicans*.
3. Tidak ada perbedaan kadar IFN-gamma dan IL-10 pada penderita DM dan infeksi *C.albicans* dengan kontrol Non-DM tanpa infeksi *C.albicans*.
4. Ada perbedaan kadar IFNgamma dan IL-10 serum antara kontrol infeksi *C.albicans* dengan kontrol tanpa infeksi *C.albicans*.
5. Pola imunopatobiologis dapat digunakan untuk mengungkap imunopatobiogenesis infeksi *C.albicans* rongga mulut pada penderita DM.

#### 7.2 Saran

Berdasarkan simpulan tersebut di atas, maka di ajukan beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk pemeriksaan sitokin dalam saliva, sebagai respons imun lokal dalam rongga mulut.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang perubahan respon imun mukosa mulut pada tingkat molekuler dalam kaitannya dengan proteksi terhadap infeksi *C.albicans*.
3. Pada penderita DM disarankan untuk kontrol glukosa darah sehingga berada dalam batas normal, dengan demikian kadar HbA1c akan normal.
4. Pada penderita DM juga disarankan untuk kontrol *Oral Hygiene* termasuk karies gigi.
5. Bagi penderita DM yang memakai protesis agar memelihara kebersihannya dan melepasnya pada malam hari.
6. Pada penderita DM dengan respons imun yang menurun perlu dilakukan terapi IFN-gamma sebagai alternatif terakhir untuk mencegah keparahan komplikasi infeksi khususnya *C.albicans* rongga mulut.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, 1994. **Cellular and Molecular Immunology**. W B Saunders Company, Philadelphia London Toronto Mantreal Sidney Tokyo, pp 320-333.
- Abu-Elteen KH, Abu-Elteen RM, 1998. The Prevalens of *C.albicans* populations in the mouths of complete denture weares. **New Microbiol**, 21 (1) : 41-8.
- Allen CM, 1991. **Medical Mycology, Essential Dental Microbiology**. Prentice-hall International Inc. London Sidney Toronto Mexikco New-Delhi Tokyo Singapore Rio-de-Janeiro Jersey, pp 237-244.
- Aly FZ, Blackwell CC, Mackenzie DA, Weir DM, Clarke BF, 1992. Factors influencing oral carriage of yeasts among individuals with diabetes mellitus. **Epidemiol Infect**, 109 (3) : 507-518.
- Andre-Schmutz I, Hindelang C, Benoist C, Mathis D, 1999. Cellular and molecular changes accompanying the progression from insulitis to diabetes. **Eur J Immunol**, 29 (1) : 245-55.
- Ardawi MSM, Nasrat HAN, Bahnassy AA, 1994. Serum immunoglobulin concentrations in diabetic patients. **J Diabetic Medicine**, 11 : 384-387.
- Baratawijaya KG, 1996. **Immunology Dasar**. Edisi 3, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal 3-113.
- Bailey A, Wadsworth E, Calderone R, 1995. Adherence of *C.albicans* to human buccal epithelial cell : Host induced protein synthesis and signaling events. **J Infection and Immunity** : 569-572.
- Bellanti JA, 1993. **Immunology III**. Gajah Mada University Press, hal 4-55.
- Bennet PH, 1994. **Definition, dignosis and classification of Diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Joslin's Diabetes Mellitus**. 13<sup>th</sup> Ed, Philadelphia Baltimore Hongkong London Munich Sidney, pp 193-201.
- Bergmann OJ, 1996. The demonstration of candidal pseudohyphae in salivary smears as a methode of early diagnosis of oral candidiasis in patients with acute myeloid leukemia. **Oral Microbiol Immunol**, 5 : 362-364.
- Bernardis FD, Chiani P, Ciccozzi M, Pellegrini G, Ceddia T, D'Offizzi G, Quinti I Sullivan P, Cassone A, 1996. Elevated aspartic proteinase secretion and experimental pathogenecity of *C.albicans* isolates from oral cavities of subjects infected with human immunodeficiency virus. **J Infection and Immunity** : 466-471.

- Bickel M, Nothen SM, Freiburghaus K, Shire D, 1996. Chemokine expression in human oral keratinocyte cell lines and keratinized mucosa. **J Dent Res**, 75 (11) : 1827-1834.
- Blasi E, Pitzurra L, Chimienti AR, Mazzolla R, Puliti M, Barluzzi R, Bistoni F, 1995. Differential susceptibility of yeast and hyphael forms of *C.albicans* to proteolytic activity of makrofages. **Infection and Immunity** : 1253-57.
- Bonnardel-Phu E, Wautier JL, Schmidt AM, Avila C, Vicaut E, 1999. Acute modulation of albumin microvascular leakage by advanced glycation end products in microcirculation of diabetic rats in vivo. **Diabetes**, 48 (10) : 2052-8.
- Brownlee M, 1995. Advanced Protein Glycosylation in Diabets And Ageing. **Annu Rev Med**, 46 : 223-34.
- Budz-Jorgensen E, 1990. Etiology, pathogenesis, therapy and prophylaxis of oral yeast infection. **Acta Odontol Scand**, 48 : 61-69.
- Budtz-Jorgensen E and Lombardi T, 1996. Antifungal therapy in the oral cavity. **Periodontology**, 10 : 89-106.
- Castagnali C, Trombotto C, Ariotti S, Millesimo M, Ravarino, 1999. Expression and Role of IL-15 in Post-Burn Hypertrophic Scars. **J Invest Dermatol**, 13 (2) : 238-45.
- Challconbe SJ, 1994. Immunologic aspects of oral candidiasis. **Oral-Surg Oral-Med Oral-Pathol**, 78 (2) : 202-10.
- Chalacombe SJ, 1997. Salivary and mucosal immune response to HIV and its co-pathogen. **Oral Dis**, 1 : 79-84.
- Chappey O, Dosquet C, Wautier MP, Wautier JL, 1997. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. **Eur J Clin Invest**, 27(2): 97-108.
- Clemens MJ, 1991. **Cytokines**. Bios Scientific Publisher, pp 23-54.
- Cochran WG, 1991. **Teknik Penarikan Sampel**. Edisi 3, Universitas Indonesia, hal 86-89.
- Colina AR, Aumont F, Deslauriers N, Behumeur P, Repentigni L, 1996. Evidence for degradation of gastrointestinal mucin by *C.albicans* secretory aspartyl proteinase. **J Infection and Immunity**, : 4514-19.
- Cotran RS, Kumar V, Collins T, 1999. **Pathologic Basis of Disease**, 6<sup>th</sup> Ed, WB Saunders Company., Philadelphia London Toronto Montreal Sidney Tokyo, pp 55-111.

- Cross LJ, Bagg J, Moseley H, 1998. Evaluation of an optical instrument for objective assessment of oral mucosal erythema. **J of Oral Rehabilitation**, 25 : 496-501.
- Cunningham JM, Green IC, 1994. Cytokines, nitric oxide and insulin secreting cells. **Growth Regulation**, 4 : 173- 180.
- Darwazeh AM, MacFarlane TW, McCuish A, Lamey PJ, 1991. Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patient with diabetes mellitus. **J Oral Path Med**, 20 (6) : 280-3.
- Darwazeh AMG, MacFarlane TW, Lamey PJ, 1997. The in vitro adhesion of *C.albicans* to buccal epithelial cell (BEC) from diabetic and non diabetic individuals after in vitro application of nystatin. **J Oral Pathol Med**, 26 : 233-6.
- Dedic A, Masic I, 1999. Diabetes mellitus and *C.albicans*. **Med Arh**, 53(1) : 43-5.
- Dinarello CA, Novick D, Puren AJ, Fantuzzi G, Shapiro L, 1998. Overview of IL-18 : More Than an IFN-gamma Inducing Factor. **J Leucoc Biol**, 63 (6) : 658-64.
- Dobbeling U, Dummer R, Laine E, Potoczna N, Qin JZ, Burg G, 1998. Interleukin-15 is an Autocrine/Paracrine viability Factor for Cutaneous T-Cell Lymphoma Cells. **Blood**, 92 (1) : 252-8.
- Egwuagu CE, Mahdi RM, Chan CC, Szein J, Li W, Smith JA, 1999. Expression of interferon-gamma in the lens exacerbates anterior uveitis and induces retinal degenerative changes in transgenic lewis rats. **J Clin Immunol**, 91 (2) : 196-205.
- Emmons CW, Binford CH, Utz JP, 1970. **Candidiasis in Medical Mycology**. 2<sup>nd</sup> Ed, Lea and Febiger Philadelphia, pp 167- 182.
- Faustman, 1991. Linkage of faulty MHC class I to autoimmune diabetes. **Science**, : 254-59.
- Fantuzzi G, Dinarello JA, 1999. Interleukin-18 and IL-1beta : Two Cytokine Substrates for ICE (Caspase-1). **J Clin Immunol**, 19 (1) : 1-11.
- Fidel PL, Lynch ME, Conaway DH, Tait L, Sobel JD 1995. Mice immunized by primary vaginal *C.albicans* infection develop acquired vaginal mucosal immunity. **Infection and Immunity** : 547-553.
- Filler SG, Pfunder AS, Spellberg BJ, Spellberg JP, Edwards JE, 1996. *C.albicans* stimulates sitokine production and leucocyte adhesion molecule expression by endothelial cells. **Infection and Immunity** : 2609-17.

- Flahaut M, Sanglard D, Monod M, Bille J, Rossier M, 1998. Rapid detection of *C.albicans* in clinical sampels by DNA amplification of common regions from *C.albicans* secreted aspartic proteinase gene. **J Clinical Microbiology** : 395-401.
- Fongsmut T, Deerochanawong C, Prachyabrued W, 1998. Intra oral candida in Thai diabetes patient. **J Med Assoc Thai**, 81 (96) : 449-53.
- Fratti RA, Ghannoum MA, Edwards JE, Filler SG, 1996. Gamma interferon protects endothelial cells from damage by *C.albicans* by inhibiting endothelial cell phagocytosis. **Infection and Immunity** : 4714-18.
- Gaviria JM, van Burik JA, Dale DC, Root RK, Liles WC, 1999. Comparison of interferon-gamma, granulocyte colony- stimulating factor, and granulocyte-macrophage colony- stimulating factor for priming leucocyte mediated hyphal damage of opportunistic fungal pathogens. **J Infect Dis**, 179 (4) : 1038-41.
- Garner RE, Hudson JA, 1996. Intra venous injection of candida-derived mannan results in elevated TNF alpha levels in serum. **J Infection and Immunity** : 4561-66.
- Gemmell E and Seymour GJ, 1998. Cytokine profiles of cells extracted from humans with periodontal diseases. **J Dent Res**, 77 (1) : 16-26.
- Grossi SG, Genco RJ, 1998. Periodontal disease and diabetes mellitus : a Two-way Relationship. **Ann Periodontol**, 3 (1) : 51-61.
- Hamblin AS, 1993. **Cytokines and cytokine receptors**. Oxford University Press, pp 5-47.
- Hanninen A, Salmi M, Simell O, Jalkanen S, 1993. Endothelial cell-binding properties of lymphocytes infiltrated in to human diabetic pancreas : Implications for pathogenesis of IDDM. **Diabetes** 42 (11) : 1656-62.
- Harlina, 1994. Hubungan antara kuantitas *C.albicans* rongga mulut dengan tingkat kadar glukosa darah, glukosa saliva dan pH saliva pada penderita diabetes mellitus. Tesis, Universitas Airlangga Surabaya.
- Haryana SM, 1997. Cytokine regulation in mucosa. Pre-conference course on mucosal immunology of the gut, Yogyakarta.
- Haskell R, Gayford JJ, 1991. **Penyakit Mulut**. Alih Bahasa Lilian Yuwono, Penerbit Buku EGC : 56-64.
- Hayashi T, Morimoto M, Iwata H, Onodera T, 1998. Interferon gamma plays a role in pancreatic islet-cell destruction of reovirus type 2-induced diabetes like syndrome in DBA/1 suckling mice. **J Exp Pathol**, 79 (5) : 313-20.

- Hill RB, Lavi MF, 1980. **Principles of Pathobiology**. 3<sup>rd</sup> edition, Oxford : Oxford University Press, pp 21-187.
- Huang X, Yuang J, Goddard A, Foulis A, James RF, Lernmark A, 1995. Interferon expression in the pancreases of patient with type I diabetes. **Diabetes** 44 (6) : 658-644.
- Kaminishi H, Myaguchi H, Tamaki T, Suenaga N, Hisamatsu M, 1995. Degradation of humoral host defense by *C.albicans* proteinase. **Infection and Immunity** : 948-88.
- Kaposzta R, Tree P, Marodi L, Gordon S, 1998. Characteristics of invasive candidiasis in gamma-interferon and interleukin-4 deficient mice : role of macrophages in host defense against *C.albicans*. **Infect Immun**, 66 (4) : 1708-17.
- Kennedy MJ, 1988. Adhesion and association mechanisms of *C.albicans*. **Curr Top Med Mycol**, 2 : 73-103.
- Kennedy L, Lyons TJ, 1989. Non-enzymatic glycosylation. **British Medical Medicine** 45 (1) :174-90.
- Kennedy DM, Skillen AW, Self CH, 1994. Glycation of monoclonal antibodies impairs their ability to bind antigen. **Clin Exp Immunol**, 98 : 245-51.
- Kiyono H, McGhee JR, 1994. Mucosal immunology : Intraepithelial lymphocytes. **Advances in host defense mechanisms** 9: 1-32
- Lalla E, Lamster IB, Schmidt AM, 1998. Enhanced interaction of advanced glycation end products with their cellular receptor RAGE : Implications for the pathogenesis of accelerated Periodontal disease in diabetes. **Ann Periodontol**, 3 : 13-19.
- Lavigne LM, Schopf LR, Chung CL, Maylor R, Sypek JP, 1998. The role of recombinant murine IL-12 and IFN $\gamma$  in the pathogenesis of a murine systemic *C.albicans* infection. **J Immunol** 160 (1) : 284-92.
- Lehner T, 1995. **Imunologi pada penyakit mulut**. Edisi 3, Penerbit Buku Kedokteran EGC hal 7-56.
- Leigh JE, Steele C, Wormley FL, Luo W, Clark RA, Gallaher W, Fidel PL, 1998 : Th1/Th2 cytokine expression in saliva of HIV-positive and HIV-negative individuals : A pilot study in HIV-positive individuals with oro pharyngeal candidosis. **J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol**, 19: 373-80.



- Levitz SM, Tabuni A, Nong SH, Golembock DT, 1996. Effect of interleukin-10 on human peripheral blood mononuclear cell responses to cryptococcus neoformans, *C.albicans* and lipopolysaccharide. **J Infection and Immunity** : 945-951.
- Ley Yu, Lee KK, Ens K, Doig PC, Carpenter MR, Staddon W, Hodges RS, Paranchych E, Irvin RT, 1994. Partial characterization of a *C.albicans* fimbrial adhesion. **J Infection and Immunity**, : 2834-42.
- Lynch MA, Brighman VJ, Greenberg MS, 1984. Burket's oral medicine diagnosis and treatment. 8<sup>th</sup> Ed, JB Lippincott Company Philadelphia, pp 221-41.
- Lyons TJ, 1992. Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. **Diabetes**, 41 (2) : 67-73.
- Matthews R, Burnie J, 1992. The role of HSP90 in fungal infection. **J Immunology Today** 13 (9) : 345-347.
- McMahon MM & Bistran BR, 1995. Host defenses and susceptibility to infection in patient with diabetes mellitus. **Infectious Disease Clinics of North America**, 9 :1-9.
- Mega J, Fujihashi K, Kiyono H, 1992. Regulation of mucosal immune responses by T lymphocyte : the effect of chronic CD4+ T cell deficiency on IgA synthesis. **Regional Immunology**, 4 : 70-78.
- Mencacci A, Romani L, Mosci P, Cenci E, Tonnetti L, Vecchiarelli A, Bistoni F, 1993. Low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice II : Susceptibility to infection *C.albicans* in correlate with the induction of abiated Th2-like antifungal response. **Cell Immunol**, 150 (1) : 36-44.
- Mikat DM and Mikat KW, 1981. **A clinician's dictionary guide to bacteria and fungi**. Eli Lilly Company and PT Darya Varia Laboratoria, pp 60-77.
- Moetmainah, 1993. Pengaruh tumpatan amalgam terhadap perubahan respons imun jaringan gusi. Disertasi, Universitas Airlangga Surabaya.
- Morohoshi M, Fujisawa K, Uchimura A, Numano F, 1995. The effect of glucose and advanced glycosilation end product on IL-6 production by human monocytes. **Ann-N-Y-Acad-Sci**, 17 : 562-70.
- Murrah VA, 1985. Diabetes mellitus and associated oral manifestation. **J Oral Path**, 14 : 271-81.
- Nawroth PP, Bierhaus A, Vogel GE, Hofmann MA, Zumbach M, Wahl P, Ziegler R, 1999. Non enzymatic glycation and oxidative stress in chronic illnesses and diabetes mellitus. **Med Klin**, 94(1): 29-38.

- Nelson RD, Shibata N, Podzorski RP, Herron MJ, 1991. *Candida mannan* : Chemistry, suppression of cell-mediated immunity and possible mechanisms of action. **Clinical Microbiology Reviews**, : 1-19.
- Odds FC. *Candida* species and virulence. **ASM News**, 60 (6) :313- 318.
- Ogra PL, Lamm ME, McGhee JR, Mestecky J, Strober W, Binenstock J, 1994. **Handbook of Mucosal Immunology**. Academic Press Inc, San Diego New York Boston London Sidney Tokyo Toronto, pp 607-24.
- Opdenakker G, Rudd PM, Wormald M, Dwek RA, Van-Damme J, 1995. Cell regulate the activities of cytokines by glycosilation. **J Faseb**, 9 (5) : 453-57.
- Olsen I, 1990. Oral adhesion of yeasts. **Acta Odontol Scand**, 48 : 45-52.
- Perhimpunan Endokrinologi Indonesia (PERKENI), 1998. **Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus di Indonesia**, hal 1-8.
- Plotkin BJ, Paulson D, Chelich A, Jurak D, Cole J, Kasimo J, Burdick JR, Casteel N, 1996. Immune responsiveness in a rat model for type II diabetes (Zucker Rat, fa/fa) susceptibility to *C.albicans* infection and leucocyte function. **J Med Microbiol**, 44 (4) : 277-83.
- Porte D, Halter JB, 1981. **The Endocrine Pancreas & Diabetes Mellitus**, in textbook of Endocrinology. Edit : William RH, WB Saunders Company Philadelphia London Toronto, pp 716-42.
- Pozzilli P, Leslie RGD, 1994. Infection and diabetes : mechanisms and prospects for prevention. **Diabetic Medicine**, 11 : 935-941.
- Putra ST, 1990. Pola imunopatologik kelenjar getah bening regional sebagai prognostikator kanker payudara, suatu pendekatan morfofungsional. Disertasi, Universitas Airlangga Surabaya.
- Putra ST, 1997. Konsep patobiologi dan imun mukosal, **Imunologi Mukosal Kedokteran**. Graha Masyarakat Ilmiah Kedokteran, FK Unair Surabaya, 27-35.
- Quirino MR, Birman EG, Paula CR, 1995. Oral manifestation of diabetes mellitus in controlled and uncontrolled patient. **J Braz Dent**, 6 : 131-136.
- Rabinovitch A, Suarez-Pinzon W, Strynadka K, Ju Q, Edelstein D, Brownlee M, Korbitt GS, Rajotte RV, 1999. Transfection of human pancreatic islets with an anti apoptotic gene (bcl-2) protects beta-cells from cytokine-induced destruction. **Diabetes**, 48 (6) : 1223-9.
- Regezi JA, Sciubba JJ, 1994. **Oral Pathology, Clinical Pathology Correlation**. WB saunders Company Philadelphia, pp 110-116.

- Rippon JW, 1974. Medical mycology, **The Pathogenic Fungi and The Pathogenic Actinomycetes**. WB Saunders Company Philadelphia London Toronto, pp 175-204.
- Roitt I, Brostoff J, Male D, 1996. **Immunology**. London New York, Gower Medical Publishing, pp 8.8-8.12.
- Romagnani S, 1996. Short analytic review Th1 and Th2 in human diseases. **Clinical Immunology and Immunopathology**, 80 (3) : 225-235.
- Romagnani S, 1997. The Th1/Th2 paradigm. **J Immunology Today**, 18 (6) : 263-66.
- Sasaki Y, Mori T, Shiiki H, Dohi K, Ishikawa H, 1993. Non-enzymatic glycation of mouse monoclonal antibody reduces its binding activity to antigen. **Clinica Chimica Acta**, 220 : 119-121.
- Schroeder HE, 1991. **Oral Structural Biology**. Thime Medical Publishers Inc Newyork, pp 350-385.
- Sentochnick DE, Eliopoulus GM, 1994. **Infection and Diabetes : in Joslin's Diabetes Mellitus**. Ed 13<sup>th</sup>, Philadelphia Baltimore Honhkong London Munich Sidney Tokyo, pp 867- 881.
- Sepulveda P, Lopez-Ribot JL, Gozalbo D, Cervena A, Martinez JP, Chaffin WL, 1996. Ubiquitin-like epitopes Associated with *C.albicans* cell surface receptors. **Infect Immun** : 4406-4408.
- Shimada A, Charlton B, Rohane P, Taylor EC, Fathman CG, 1996. Immune regulation in type I diabetes. **J Autoimmune**, (2) : 263-69.
- Sonis ST, Fazio RC, Leslie F, 1984. **Principle and Practice of Oral Medicine**. W B Saunders Company Philadelphia, pp 153.
- Sternberg M, Urios P, Grigorova-Borsos AM, 1995. Effect of Glycation Process on The Macromolecular structure of The Gromerular Basement Membranes and on The Glomerular Functions in Ageing and Diabetes Mellitus. **C R Seances Soc Bio Fill**, 189 (6) : 967-85.
- Stites DP, 1994. **Mucosal Immunology**. In Basic and Clinical Immunology. 8<sup>th</sup> Ed. Lange medical Book, Prentice Hall Inc, pp 607-639.
- Stites DP, 1997. Cytokine, in medical immunology, 9<sup>th</sup> Ed., pp 146-168.
- Subowo, 1993. Imunitas dalam jaringan mukosa. Cetakan I Bandung, hal 119-129.

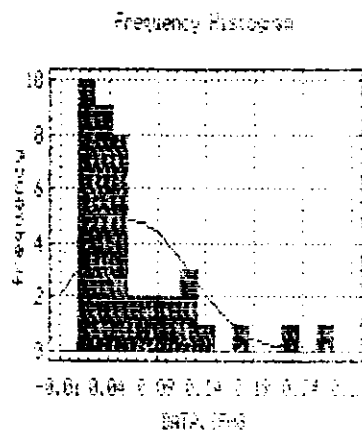
- Suga T, Sugiyama Y, Kitamura S, 1994. Clinical study of patient with idiopathic interstitial pneumonia accompanied by diabetes mellitus. **Nippon-Koyobu-Shikkan-Gakkai-Zasshi**, 32 (12) : 1131-35.
- Suryohudoyo P, Purnomo U, 1996. **Dasar Molekuler Diabetes Mellitus**. Surabaya Diabetes Update-1.
- Szkaradkiewicz A, Szponar E, Krzemiska-Jakowiak E, Tuecka T, 1998. Serum interferon-gamma (IFN $\gamma$ ) in chronic oral candidosis. **Med Mycol**, 36 (5) : 269-73.
- Taniyama H, Ushiki T, Tajima M, Kurosawa T, Kitamura N, Takahashi K, Matsukawa K, Itakura C, 1995 : Spontaneous Diabetes Mellitus associated with persistent bovine viral diarrhoea (BVD) virus infection in young cattle. **Vet Pathol**, 32 (3) : 221-229.
- Tjokroprawiro A, 1987. Aspek klinik diabetes mellitus di bidang kedokteran gigi. Kursus Penyegar Ilmu kedokteran gigi RUMKITAL Surabaya.
- Tjokroprawiro A, 1996. Kuliah Diabetes Mellitus. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Tjokroprawiro A, 1997. Diabetes Update 1997. Pusat Diabetes dan Nutrisi RSUD Dr. Sutomo Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.
- Tjokroprawiro A, 1999. Aplikasi diet-diabetes di RSUD Dr Soetomo : 11 paket diet dan sosialisasi diet-G dan diet-KV, hal 13.
- Thorstensson H, Falk H, Hugoson A, Olsson J, 1989. Some salivary factors in insulin dependent diabetics. **Acta Odontol Scand**, 47 : 175-183.
- Umazume M, Ueta E, Osaki T, 1995. Reduced inhibition of *C.albicans* adhesion by saliva from patient receiving oral cancer therapy. **Infect Immunity**, 432-39.
- Van Der Wall, 1996. **Disease of the Tongue**. Quintessence Publishing Co. Inc Chicago Illinois : 167.
- Warram JH, Ricb SS, Krolewski AS, 1994. **Epidemiology and Genetics of Diabetes Mellitus in Joslin's Diabetes Mellitus**. 13<sup>th</sup> Ed, Philadelphia Baltimore Hongkong London Munich Sidney Tokyo, pp 201- 10.
- Weir GC, Leaby JL, 1994. **Pathogenesis of Non-Insulin Dependent (Type I) Diabetes Mellitus**, in **Joslin's Diabetes Mellitus**. 13<sup>th</sup> Ed, Philadelphia Baltimore Hongkong London Munich Sidney Tokyo, pp 240-45.

- Weiss MF, Rodby RA, Justice AC, Hricik DE, 1998. Free pentosidine and neopterin as markers of progression rate in diabetic nephropathy. Collaborative study group. **Kidney Int**, 54 (1) : 193-202.
- Wijaya A, 1997. Pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis dan pengelolaan diabetes mellitus update. Prodia Diagnostics Educational services 1 : 1-16.
- Williams DW, Wilson MJ, Lewis MAO, Potts AJC, 1996. Identification of candida species in formalin fixed, paraffin wax embedded oral mucosa by sequencing in ribosomal DNA. **J Clin Med Pathol**, 49 : 23-28.
- Williams DW, Potts AJC, Wilson MJ, Matthews JB, Lewis MAO, 1997. Characterisation of the inflammatory cell infiltrate in chronic hyperplastic candidosis of the oral mucosa. **J Oral Pathol Med**, 26 : 83-9.
- Willis AM, Coulter WA, Fulton CR, Hayes JR, Bell PM, Lamey PJ, 1999. Oral candidal carriage and infectio in insulin-treated diabetic patient. **Diabet Med**, 16 (8) : 675-9.
- Wilton JMA, Lehner T, 1981. **Immunolgy of Candidiasis in Immunology of Human Infection** . New York and London, pp 525-559.
- Yamamoto H, Sims NE, Maculey SP, Nguyen KH, Nakagawa Y, Humphreys-Beher MG, 1996. Alteration in the secretory response of non-obese diabetic (NOD) mice to muscarinic receptor stimulation. **J Clin Immunol Immunopathol**, 78 : 245-255.
- Zegarelli DJ, 1993. Fungal infection of the oral cavity. **Otolaryngol Clin North Am**, 26 (6) : 1069-1089.

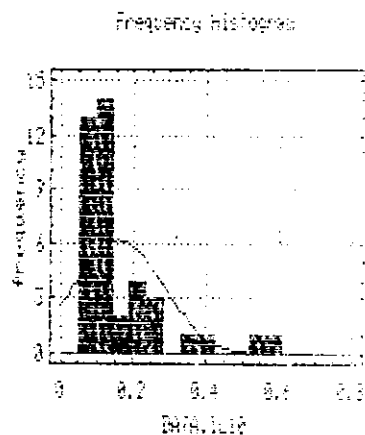
## Data Sampel Penelitian

No.	Umur	LamaDM	HbA1c	Koloni	OH	IFN	IL-10	Limf	Plas	PMN	MO	Mono	EOS
1.	44 th	4 th	11,8 %	+	0,9	0,029	0,136	5	0	12	0	3	2
2.	43 th	4 th	11,9 %	+	1,1	0,048	0,180	0	0	89	0	3	8
3.	45 th	7 th	10,4 %	+	1,9	0,059	0,248	0	0	0	0	0	0
4.	54 th	5 th	8,8 %	+	1,0	0,011	0,093	2	0	7	2	2	6
5.	47 th	10 th	9,1 %	+	1,7	0,013	0,139	0	0	6	0	2	0
6.	60 th	9 th	9,3 %	+	1,1	0,029	0,074	0	1	60	7	7	1
7.	56 th	30 th	9,3 %	+	0,9	0,034	0,132	0	0	6	0	1	0
8.	58 th	28 th	8,3 %	+	1,5	0,052	0,074	0	0	5	0	0	0
9.	60 th	18 th	13,1 %	+	1,2	0,023	0,346	0	0	9	1	3	6
10.	49 th	3 th	11,9 %	+	2,0	0,021	0,109	2	0	45	5	3	0
1.	50 th	11 th	10,1 %	-	1,4	0,016	0,074	0	0	3	0	5	0
2.	54 th	4 th	10,4 %	-	0,8	0,137	0,520	0	0	9	1	3	0
3.	48 th	8 th	8,8 %	-	1,8	0,021	0,095	2	0	16	5	6	0
4.	53 th	3 th	8,7 %	-	1,9	0,084	0,062	1	0	8	2	2	0
5.	54 th	8 th	8,4 %	-	1,1	0,025	0,051	6	0	55	3	5	2
6.	46 th	4 th	10,7 %	-	1,9	0,029	0,095	0	1	8	0	4	3
7.	54 th	22 th	10,5	-	0,9	0,091	0,185	0	1	2	1	1	3
8.	54 th	2 th	10,0 %	-	2,0	0,074	0,108	0	0	23	0	48	17
9.	60 th	10 th	9,4 %	-	1,8	0,128	0,095	0	0	0	0	0	0
10.	50 th	20 th	9,8 %	-	1,8	0,058	0,406	0	0	2	1	1	0
1.	52 th	-	6,0 %	+	1,4	0,035	0,120	3	0	27	4	7	3
2.	45 th	-	6,0 %	+	1,9	0,029	0,085	0	0	11	6	19	5
3.	44 th	-	5,3 %	+	1,5	0,036	0,577	0	0	6	0	2	0
4.	55 th	-	5,8 %	+	1,3	0,039	0,229	5	0	18	0	4	0
5.	55 th	-	5,9 %	+	1,3	0,066	0,185	6	0	32	0	2	3
6.	49 th	-	5,7 %	+	1,7	0,005	0,115	0	0	5	1	0	0
7.	48 th	-	4,5 %	+	1,4	0,017	0,106	1	1	21	0	5	3
8.	50 th	-	5,8 %	+	1,7	0,095	0,118	1	0	10	2	3	0
9.	60 th	-	5,3 %	+	1,3	0,020	0,129	0	0	42	6	4	11
10.	59 th	-	5,6 %	+	1,8	0,017	0,049	2	0	7	4	3	0
1.	55 th	-	5,9 %	-	1,8	0,264	0,256	0	0	0	0	0	0
2.	45 th	-	4,6 %	-	0,9	0,231	0,176	3	0	9	0	3	2
3.	53 th	-	5,4 %	-	0,4	0,114	0,115	2	0	9	4	4	4
4.	51 th	-	4,9 %	-	0,6	0,132	0,081	1	0	8	2	2	0
5.	55 th	-	6,0 %	-	1,4	0,131	0,248	0	0	0	0	0	0
6.	51 th	-	6,0 %	-	1,4	0,173	0,194	0	0	44	5	4	0
7.	59 th	-	5,5 %	-	1,3	0,051	0,085	0	0	0	0	2	0
8.	60 th	-	4,8 %	-	1,6	0,050	0,065	6	0	115	15	13	2
9.	57 th	-	5,9 %	-	0,7	0,047	0,061	0	2	33	11	11	3
10.	60 th	-	5,0 %	-	0,9	0,051	0,069	0	0	10	0	0	0

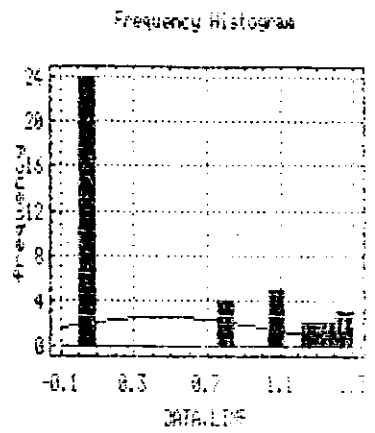
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.226508  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.172779  
 Estimated overall statistic DN = 0.226508  
 Approximate significance level = 0.0329969



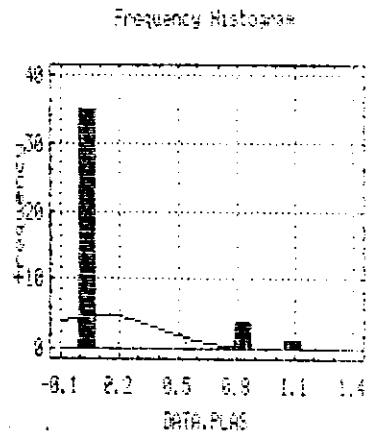
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.236509  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.184646  
 Estimated overall statistic DN = 0.236509  
 Approximate significance level = 0.0227812



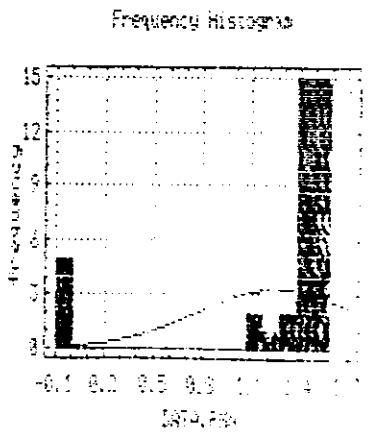
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.382345  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.217655  
 Estimated overall statistic DN = 0.382345  
 Approximate significance level = 1.66708E-5



Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.518755  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.356245  
 Estimated overall statistic DN = 0.518755  
 Approximate significance level = 0

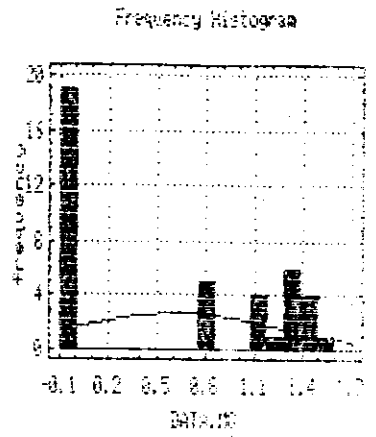


Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.282994  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.37639  
 Estimated overall statistic DN = 0.37639  
 Approximate significance level = 2.39299E-5

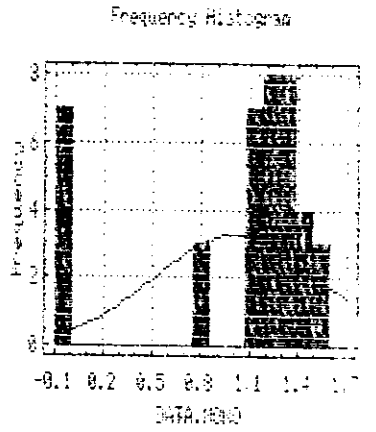




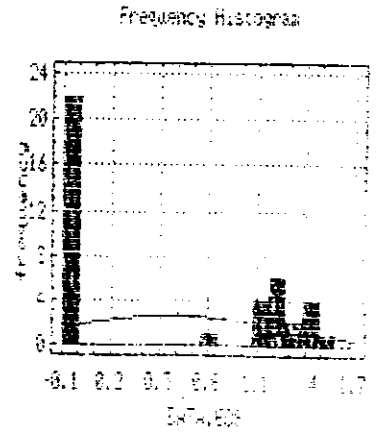
Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.314568  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.180074  
 Estimated overall statistic DN = 0.314568  
 Approximate significance level = 7.29548E-4



Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.15494  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.311912  
 Estimated overall statistic DN = 0.311912  
 Approximate significance level = 6.33406E-4



Estimated KOLMOGOROV statistic DPLUS = 0.360229  
 Estimated KOLMOGOROV statistic DMINUS = 0.224766  
 Estimated overall statistic DN = 0.360229  
 Approximate significance level = 6.20207E-5



LAMPIRAN 3

① Uji perbedaan (DM+ dengan DM-)

MAN (ifmg il10 BY kel(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deg.

20 cases accepted.

20 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE - DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 0, N = 7 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.25049	2.84079	2.00	17.00	.086
Hotellings	.33421	2.84079	2.00	17.00	.086
Milks	.74951	2.84079	2.00	17.00	.086
Roys	.25049				

# see please

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.33421	100.00000	100.00000	.50049

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
IFMG	.00592	.01995	.00592	.00111	5.33927	.033
IL10	.00128	.30012	.00128	.01667	.07677	.785

Averaged F-test with (2,36) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 2	.00720	.32007	.00360	.00889	.40474	.670

Uji perbedaan (DM+ dengan DM-) ✓

MAN linf plas pan no mono eos BY kel(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.  
 20 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 5 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.25926	.75833	6.00	13.00	.615
Hotellings	.35000	.75833	6.00	13.00	.615
Wilks	.74074	.75833	6.00	13.00	.615
Roys	.25926				

*Handwritten notes:*  
 + / 0.5  
 log 0.5  
 0.5

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.35000	100.00000	100.00000	.50918

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LINF	.00000	57.80000	.00000	3.21111	.00000	1.000
PLAS	.05000	2.50000	.05000	.13889	.36000	.556
PMN	638.45000	10653.3000	638.45000	591.85000	1.07874	.313
PD	.20000	80.60000	.20000	4.47778	.04467	.835
PMND	130.05000	1894.90000	130.05000	105.27222	1.23537	.281
EOS	.20000	336.60000	.20000	18.70000	.01070	.919

*Handwritten notes:*  
 M.S. !!  
 ? RSC

Averaged F-test with (5,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	768.95000	13025.70000	128.15833	120.60833	1.06260	.390

② Uji perbedaan (NDM+ dengan NDM-) ✓

MW ifng il10 BY kel(3,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

20 cases accepted.

20 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 0, N = 7 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.46811	7.48070	2.00	17.00	.005
Hotellings	.88008	7.48070	2.00	17.00	.005
Wilks	.53189	7.48070	2.00	17.00	.005
Roys	.46811				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.88008	100.00000	100.00000	.68418

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
IFMG	.03916	.06210	.03916	.00345	11.35048	.003
IL10	.00659	.25833	.00659	.01435	.45907	.507

Averaged F-test with (2,36) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 2	.04575	.32043	.02287	.00890	2.56994	.071

Uji perbedaan (NOM+ dengan NOM-)

MAN linf plas pan mo mono eos BY kel(3,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

- 20 cases accepted.
- 20 cases rejected because of out-of-range factor values.
- 0 cases rejected because of missing data.
- 2 non-empty cells.
- 1 design will be processed.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE — DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 5 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.26845	.79506	6.00	13.00	.590
Hotellings	.36695	.79506	6.00	13.00	.590
Wilks	.73155	.79506	6.00	13.00	.590
Roys	.26845				

*for plus*

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.36695	100.00000	100.00000	.51812

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LINF	1.80000	79.20000	1.80000	4.40000	.40909	.530
PLAS	.05000	4.50000	.05000	.25000	.20000	.660
PAN	129.05000	12786.50000	129.05000	710.36111	.16900	.686
MO	9.80000	310.20000	9.80000	17.23333	.56867	.461
MONO	5.00000	439.80000	5.00000	24.43333	.20464	.656
EOS	9.80000	131.40000	9.80000	7.30000	1.34247	.262

Averaged F-test with (6,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	146.50000	13751.60000	24.41667	127.32963	.19176	.979

③ Uji perbedaan (DM- dengan NDM-) ✓

MAN ifng il10 BY GROUP(7,8)/pri cell (all)/pri ho0o (all)/pri signif (all)/disc/desig..

20 cases accepted.  
 20 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 0, N = 7 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.30804	3.78393	2.00	17.00	.044
Hotellings	.44517	3.78393	2.00	17.00	.044
Wilks	.69196	3.78393	2.00	17.00	.044
Roys	.30804				

*no p b t m*

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.44517	100.00000	100.00000	.55501

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
IFMS	.01688	.07326	.01688	.00407	4.14691	.057
il10	.00581	.28729	.00581	.01596	.36427	.554

*y v r*

Averaged F-test with (2,36) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 2	.02269	.36055	.01135	.01002	1.13286	.300

Uji perbedaan (DM- dengan NDM-) ✓

MAN linf plas pan mo mono eos BY GROUP(7,8)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

- 20 cases accepted.
- 20 cases rejected because of out-of-range factor values.
- 0 cases rejected because of missing data.
- 2 non-empty cells.
- 1 design will be processed.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, K = 2, N = 5 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.25634	.74684	6.00	13.00	.623
Hotellings	.34470	.74684	6.00	13.00	.623
Wilks	.74366	.74684	6.00	13.00	.623
Roys	.25634				

*for plas*

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.34470	100.00000	100.00000	.50630

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LINF	.45000	68.50000	.45000	3.80556	.11825	.735
PLAS	.00000	5.20000	.00000	.28889	.00000	1.000
PAN	520.20000	13826.00000	520.20000	766.11111	.67725	.421
MO	28.80000	278.20000	28.80000	15.45556	1.86341	.189
MONO	64.80000	2945.40000	64.80000	113.63333	.57026	.460
EOS	9.80000	269.40000	9.80000	14.96667	.45479	.429

Averaged F-test with (6,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	824.05000	16492.70000	137.00833	152.71019	.88108	.665

④ Uji Perbedaan (DM+ dengan NDM+) ✓

MAN ifno 1110 BY GROUP(5,6)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deg.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE — DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 0, N = 7 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Wilks	.01340	.11541	2.00	17.00	.892
Hotelling's	.01336	.11541	2.00	17.00	.892
Wilk's	.98660	.11541	2.00	17.00	.892
Ross	.01340				

Eigenvalues and Canonical Correlations

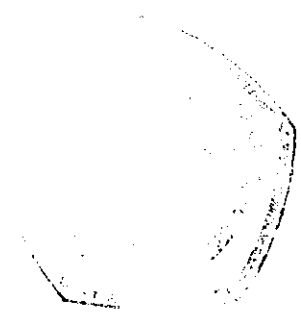
Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.01336	100.00000	100.00000	.11574

Univariate F-tests with (2,16) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
IFNE	.00006	.00076	.00003	.00046	.16363	.690 ✓
AL10	.00166	.27113	.00166	.01595	.10994	.741 ✓

Averaged F-test with (2,16) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
Line 2	.00174	.27995	.00087	.01776	.11167	.739





4

UJI PERBEDAAN (DM+ dengan NDM+)

MAN linf plas pmn no mono eos BY GROUP(5,6)/pri cell (all)/pri how (all)/pri signif (all)/disc/desig.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE — DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 5 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.20634	.56331	6.00	13.00	.752
Hotelling's	.25999	.56331	6.00	13.00	.752
Wilks	.79366	.56331	6.00	13.00	.752
Roots	.20634				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Fct.	Can. Pct.	Canon Cor.
1	.25999	100.00000	100.00000	.45425

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LYMF	4.05000	65.50000	4.05000	3.60556	1.06423	.316
PLAS	.00000	1.80000	.00000	.10000	.00000	1.000
PMN	180.00000	9615.60000	180.00000	534.10000	.33702	.569
MO	3.20000	112.60000	3.20000	6.25556	.51155	.484
MONC	31.25000	269.30000	31.25000	16.07222	1.94435	.180
EOS	.20000	198.60000	.20000	11.03333	.01813	.894

Averaged F-test with (6,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	219.75000	10284.60000	36.45000	95.02222	.38277	.889

MAN ifng il10 BY kel(1,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

40 cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 4 non-empty cells.

1 design will be processed.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE — DESIGN 1 \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 2, M = 0, N = 16 1/2)

*by way of test by var IFNG & IL10*

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.46880	3.67403	6.00	72.00	.003 ✓
Hotellings	.86659	4.91070	6.00	68.00	.000 ✓ <i>as per below</i>
Wilks	.53415	4.29633	6.00	70.00	.001 ✓
Roys	.46241				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.86016	99.25762	99.25762	.68001
2	.00643	.74238	100.00000	.07995

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
1 TO 2	.53415	4.29633	6.00	70.00	.001
2 TO 2	.99361	.11580	2.00	36.00	.891

Univariate F-tests with (3,36) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
IFNG	.05472	.08205	.01824	.00226	8.00276	.000 ✓
IL10	.00850	.55845	.00283	.01551	.18266	.907 ✓

Averaged F-test with (6,72) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 2	.06322	.64050	.01054	.00890	1.18444	.324

MAN limf plas pan mo mono eos BY kel(1,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

40 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

4 non-empty cells.

1 design will be processed.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\* *→ y var. total*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 3, M = 1, N = 14 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.34939	.72498	18.00	99.00	.778
Hotellings	.40043	.65997	18.00	89.00	.841
Wilks	.68820	.69182	18.00	88.17	.810
Roys	.15150				

*f os p. b. w. m.*

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.17855	44.58941	44.58941	.38923
2	.14637	36.55291	81.14231	.35732
3	.07551	18.85769	100.00000	.26497

Dimension Reduction Analysis

Roots	Wilks L.	F Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F	
1 TO 3	.68820	.69182	18.00	88.17	.810
2 TO 3	.81107	.70640	10.00	64.00	.715
3 TO 3	.92979	.62298	4.00	33.00	.649

Univariate F-tests with (3,36) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LIMF	5.40000	137.00000	1.80000	3.80556	.47299	.703
PLAS	.10000	7.00000	.03333	.19444	.17143	.915
PMW	802.60000	23439.80000	267.53333	651.10556	.41089	.746
MO	35.60000	390.80000	11.86667	10.85556	1.09314	.365
MONO	138.07500	2334.70000	46.02500	64.85278	.70968	.553
EOS	13.60000	468.00000	4.53333	13.00000	.34872	.790

Averaged F-test with (18,216) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	995.37500	26777.30000	55.29861	123.96898	.44607	.976

① UJI PERBEDAAN (DM+ dengan DM-) ✓

MAN limf plas pmn mo mono eos BY kel(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 5 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.20718	.56618	6.00	13.00	.750
Hotellings	.26131	.56618	6.00	13.00	.750
Wilks	.79282	.56618	6.00	13.00	.750
Roys	.20718				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.26131	100.00000	100.00000	.45517

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LINF	.00419	5.78129	.00419	.32118	.01305	.910
PLAS	.03064	1.54213	.03064	.08567	.36000	.556
PMN	.03353	3.94293	.03353	.21905	.15309	.700
MO	.09674	6.38544	.09674	.35475	.27269	.608
MONO	.11711	4.39437	.11711	.24413	.47971	.497
EOS	.05335	8.11753	.05335	.45097	.11831	.735

Averaged F-test with (6,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	.33577	30.16369	.05596	.27929	.20037	.976

2) UJI PERBEDAAN (NDM+ dengan NDM-) ✓

MAN linf plas pan mo mono eos BY kel(3,4)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. KEL

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 5 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.22728	.63728	6.00	13.00	.699
Hotellings	.29413	.63728	6.00	13.00	.699
Wilks	.77272	.63728	6.00	13.00	.699
Roys	.22728				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.29413	100.00000	100.00000	.47674

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LINF	.23302	6.69542	.23302	.37197	.62645	.439
PLAS	.00518	1.65837	.00518	.09213	.05618	.815
PMN	.93724	4.76294	.93724	.26461	3.54200	.076
MO	.01595	8.61150	.01595	.47842	.03333	.857
MONO	.33680	5.35641	.33680	.29758	1.13182	.301
EOS	.16408	7.87635	.16408	.43757	.37497	.548

Averaged F-test with (6,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	1.69227	34.96098	.28204	.32371	.87128	.519

4 UJI PERBEDAAN (DM- dengan NDM-)

MAN linf plas per no mono eos BY GROUP(7,8)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 5 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.10680	.25908	6.00	13.00	.947
Hotellings	.11957	.25908	6.00	13.00	.947
Wilks	.89320	.25908	6.00	13.00	.947
Roys	.10680				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.11957	100.00000	100.00000	.32681

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LIHF	.07801	6.04151	.07801	.33564	.23241	.636
PLAS	.01075	2.09016	.01075	.11612	.09256	.764
PMN	.18359	6.68834	.18359	.37157	.49408	.491
MO	.02485	7.53089	.02485	.41838	.05939	.810
MONO	.17411	5.61532	.17411	.31196	.55812	.465
EOS	.00538	7.48948	.00538	.41608	.01294	.911

Averaged F-test with (6,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	.47669	35.45571	.07945	.32829	.24200	.962

3) UJI PERBEDAAN (DM+ dengan NDM+)

MAN limf plas pmn mc mono eos BY GROUP(5,6)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/deg.

\*\*\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN \*\*\*\*\*

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 2, N = 5 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillai's	.13453	.33680	6.00	13.00	.905
Hotellings	.15545	.33680	6.00	13.00	.905
Wilks	.86547	.33680	6.00	13.00	.905
Roys	.13453				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.15545	100.00000	100.00000	.36679

Univariate F-tests with (1,18) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
LINF	.48620	6.43520	.48620	.35751	1.35996	.259
PLAS	.00000	1.11033	.00000	.06169	.00000	1.000
PMN	.12710	2.01752	.12710	.11208	1.13400	.301
MC	.35395	7.46605	.35395	.41478	.85334	.368
MONO	.25533	4.13546	.25533	.22975	1.11133	.308
EOS	.01014	8.50440	.01014	.47247	.02147	.885

Averaged F-test with (6,108) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 6	1.23272	29.66896	.20545	.27471	.74789	.612

dsc group KEL(1,4) /VAR ifng il10 limf plas pmn mo mono eos /met rao/PIN=0.5/PDUT=0.5/ana all/stat all.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

40 (unweighted) cases were processed.  
0 of these were excluded from the analysis.  
40 (unweighted) cases will be used in the analysis.

Number of Cases by Group

KEL	Number of Cases		Label
	Unweighted	Weighted	
1	10	10.0	DM+
2	10	10.0	DM-
3	10	10.0	NDM+
4	10	10.0	NDM-
Total	40	40.0	

Group Means

KEL	IFNG	IL10	LIMF	PLAS	PMN	MO	MONO	EOS
DM+ 1	.03190	.15310	.35877	.07854	1.32237	.48948	.94248	.61503
DM- 2	.06630	.16910	.32982	.15708	1.24047	.60858	1.09552	.51173
NDM+ 3	.03590	.17130	.67060	.07854	1.48180	.73555	1.16845	.66007
NDM- 4	.12440	.13500	.45472	.11071	1.04885	.67907	.90891	.47892
Total	.06463	.15713	.45348	.10622	1.27337	.62317	1.02884	.56643

Group Standard Deviations

KEL	IFNG	IL10	LIMF	PLAS	PMN	MO	MONO	EOS
1	.01637	.08560	.58220	.24836	.46951	.62950	.52366	.67527
2	.04414	.16130	.55082	.33115	.46655	.55966	.46265	.66730
3	.02662	.15100	.61324	.24836	.06109	.65825	.43044	.69924
4	.07869	.07683	.60652	.35011	.72490	.72356	.64022	.62146
Total	.05922	.12057	.58157	.28831	.49618	.62824	.51162	.64474

Wilks' Lambda (U-statistic) and univariate F-ratio  
with 3 and 38 degrees of freedom

Variable	Wilks' Lambda	F	Significance
IFNG	.59992	8.003	.0003
IL10	.98501	.1827	.9075
LIMF	.94587	.6868	.5660
PLAS	.98723	.1582	.9257
PMN	.89944	1.342	.2761
MO	.97428	.3168	.8132
MONO	.95516	.5634	.6427
EOS	.98656	.1634	.9203



----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by XEL

Analysis number (1)

Stepwise variable selection

Selection rule: Maximize Rao's V  
 Maximum number of steps..... 16  
 Minimum Tolerance Level..... .00100  
 Maximum significance of F to enter..... .50000  
 Minimum significance of F to remove..... .50000  
 Minimum increase in Rao's V..... .00000

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 3  
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00  
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .25000

----- Variables not in the analysis after step 0 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IFNG	1.0000000	1.0000000	.0003	24.00828
IL10	1.0000000	1.0000000	.9075	
LIME	1.0000000	1.0000000	.5660	
PLAS	1.0000000	1.0000000	.9257	
PMN	1.0000000	1.0000000	.2761	4.024992
MD	1.0000000	1.0000000	.8132	
MDNG	1.0000000	1.0000000	.6427	
EDS	1.0000000	1.0000000	.9203	

\*\*\*\*\*

At step 1, IFNG was included in the analysis.

	Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
	.59992	1 3	36.0
Equivalent F	8.00276	3	36.0 .0003
RAO'S V	24.00828	3	.0000 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 1 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
IFNG	1.0000000	.0003	

----- Variables not in the analysis after step 1 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IL10	.8524698	.8524698	.2487	31.19739 ✓
LINE	.9971112	.9971112	.5874	
PLAS	.9516233	.9516233	.6755	
PMN	.9173466	.9173466	.8430	
MO	.9462068	.9462068	.5391	
MONO	.9238480	.9238480	.6659	
EOS	.9782696	.9782696	.9895	

F statistics and significances between pairs of groups after step 1  
 Each F statistic has 1 and 36.0 degrees of freedom.

Group	Group		
	1 DM+	2 DM-	3 NDM+
2 DM-	2.5960		
	.1159		
3 NDM+	.35100E-01	2.0274	
	.8524	.1631	
4 NDM-	16.770	7.4053	17.182
	.0001	.0100	.0002

\*\*\*\*\*

At step 2, IL10 was included in the analysis.

	Milks' Lambda	Equivalent F	Rao's V	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
	.53415	4.29633	31.19739	2 3 6	36.0 .0010 .0000 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
IFNS	.8524698	.0001	
IL10	.8524698	.2487	

----- Variables not in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
LINE	.9092548	.7773579	.4847	34.14945 ✓
PLAS	.9408520	.8289985	.7754	
PMN	.9103568	.8043657	.8125	
MO	.9167248	.8259084	.6654	
MONO	.9219895	.8030385	.6838	
EOS	.9525172	.8300290	.9841	

F statistics and significances between pairs of groups after step 2  
 Each F statistic has 2 and 35.0 degrees of freedom.

Group	Group		
	1 DM+	2 DM-	3 NDM+
2 DM-	1.3247 .2789		
3 NDM+	.54081E-01 .9474	1.1816 .3187	
4 NDM-	11.381 .0002	5.1663 .0108	11.224 .0002

\*\*\*\*\*  
 At step 3, LIMF was included in the analysis.

	Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
	.49755	3 3	36.0
Approximate F	3.05975	9	.0033
RAO'S V	34.14945	9	.0001 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 3 -----  
 Signif. of

Variable	Tolerance	F to remove	Signif. of	Rao's V
IFNG	.8486202	.0001		
IL10	.7773579	.2054		
LIMF	.9092548	.4847		

----- Variables not in the analysis after step 3 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
PLAS	.8803409	.7520482	.8324	
PMN	.8044812	.7770870	.9700	
MO	.8719941	.7683366	.7223	
MONO	.7762870	.7655648	.6911	
EOS	.9292520	.7677273	.9983	

F statistics and significances between pairs of groups after step 3  
 Each F statistic has 3 and 34.0 degrees of freedom.

Group	Group		
	1 DM+	2 DM-	3 NDM+
2 DM-	.86371 .4693		
3 NDM+	.59902 .6201	1.4498 .2455	
4 NDM-	7.3709 .0006	3.3485 .0303	7.8696 .0004

F level or tolerance or VIN insufficient for further computation.

Summary Table

Step	Action		Vars In	Wilks'		Rao's V	Change		Label
	Entered	Removed		Lambda	Sig.		in V	Sig.	
1	IFNG		1	.59992	.0003	24.00828	.0000	24.00828	.0000
2	IL10		2	.53415	.0010	31.19739	.0000	7.18911	.0661
3	LINF		3	.49755	.0033	34.14945	.0001	2.95206	.3991

Classification Function Coefficients  
(Fisher's Linear Discriminant Functions)

VEL	=	Discriminant Functions			
		1 DM+	2 DM-	3 NDM+	4 NDM-
IFNG		3.282784	19.86864	3.047780	52.29244
IL10		11.87473	10.31338	14.56595	3.444452
LINF		1.788888	1.680428	2.855194	1.754447
(constant)		-2.668565	-3.194055	-3.645927	-5.270279

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation		Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
				Function	After				
1*	.87977	92.74	92.74	.6841209	0	.4975520	24.781	9	.0032
2*	.06293	6.63	99.38	.2433162	1	.9352857	2.3751	4	.6671
3*	.00589	.62	100.00	.0765398	2	.9941417	.20858	1	.6479

\* marks the 3 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
IFNG	1.07568	.10519	.10120
IL10	-.56220	.34419	.92297
LINF	-.16246	1.03113	-.16094

Structure Matrix:

Pooled-within-groups correlations between discriminating variables  
and canonical discriminant functions  
(Variables ordered by size of correlation within function)

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
IFNG	.86847*	.18197	.46114
LINF	-.05481	.92417*	-.37802
MOND	-.27849	.32457*	-.20202
PLAS	-.10404	-.28315*	-.16930
PMN	-.26071	.26660*	-.23764
IL10	-.10122	.08112	.99155*
MD	-.15333	.16366	-.27877*
EOS	-.07606	.12120	-.22421*

## Unstandardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
IFNG	22.53161	2.203355	2.119827
IL10	-4.513850	2.763497	7.410499
LIMF	-.2759535	1.751511	-.1714628
(constant)	-.6217276	-1.370880	-1.223614

## Canonical Discriminant Functions evaluated at Group Means (Group Centroids)

Group	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
1	-.69304	-.24911	-.08296
2	.01781	-.17981	.11349
3	-.77112	.35618	.00692
4	1.44635	.07274	-.03746

## Test of equality of group covariance matrices using Box's M

The ranks and natural logarithms of determinants printed are those of the group covariance matrices.

Group Label	Rank	Log Determinant
1 DM+	3	-14.558169
2 DM-	3	-11.643796
3 NDM+	3	-12.275897
4 NDM-	3	-12.622393
Pooled Within-Groups Covariance Matrix	3	-11.564453

Box's M	Approximate F	Degrees of freedom	Significance
43.582	2.0474	18,	4579.7 .0056

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number 2

Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.

Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 3

Minimum cumulative percent of variance... 100.00

Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is' .25000

Classification Function Coefficients

(Fisher's Linear Discriminant Functions)

KEL	=			
	1 DM+	2 DM-	3 NDM+	4 NDM-
IFNG	23.38308	44.48118	25.87601	76.39094
IL10	11.38746	9.709019	14.31287	3.507850
LINF	-7.941474E-01	-.3105395	.8546396	-.1310219
PLAS	.7397800	2.334189	1.378796	2.549391
PMN	6.335244	5.317791	6.315492	4.835844
MD	-.2769601	.1437470	.1894953	.7596176
MOND	.6241909	2.513779	1.076571	2.212015
EOS	.3091543E-01	-.7972866	-.2570028	-.7032982
(constant)	-7.073161	-8.328835	-8.710370	-10.11675

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1*	1.02427	88.16	88.16	.7113339	: 0	.4325235	27.658	24	.2747
2*	.07829	6.74	94.90	.2694595	: 1	.8755465	4.3859	14	.9527
3*	.05921	5.10	100.00	.2364408	: 2	.9440958	1.8984	6	.9238

\* marks the 3 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
IFNG	1.05268	.08376	-.08320
IL10	-.49036	.50339	.22650
LINF	-.13534	.79857	-.41990
PLAS	.19774	.19250	.40811
PMN	-.31907	.05576	-.36784
MD	.22052	.39896	-.10573
MOND	.32359	.16004	1.11783
EOS	-.17932	-.17498	-.58753

## Structure Matrix:

Pooled-within-groups correlations between discriminating variables  
and canonical discriminant functions  
(Variables ordered by size of correlation within function)

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
IFNG	.80584*	.06490	-.15498
LINF	-.04827	.76215*	-.39771
MO	.05266	.54842*	.01160
MONO	-.11003	.54104*	.44319
PMN	-.30483	.46083*	-.00153
PLAS	.05342	-.05168	.40684*
IL10	-.08704	.16896	.29707*
EOS	-.10402	.11753	-.15665*

## Unstandardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
IFNG	22.04998	1.754485	-1.742728
IL10	-3.937062	4.041736	1.818548
LINF	-.2298957	1.357167	-.7132560
PLAS	.6631893	.6456017	1.368749
PMN	-.6488285	.1133818	-.7480117
MO	.3416698	.6181365	-.1638072
MONO	.6217563	.3075111	2.147864
EOS	-.2690376	-.2625230	-.8814588
(constant)	-.6465738	-2.129724	-.6510003

## Canonical Discriminant Functions evaluated at Group Means (Group Centroids)

Group	FUNC 1	FUNC 2	FUNC 3
1	-.85339	-.34885	-.16043
2	.12449	-.06154	.39512
3	-.79269	.39515	-.07390
4	1.52160	.01524	-.16080

## Test of equality of group covariance matrices using Box's M

The ranks and natural logarithms of determinants printed are those  
of the group covariance matrices.

Group Label	Rank	Log Determinant
1 DM+	8	-26.338062
2 DM-	8	-26.432825
3 NDM+	8	-28.486181
4 NDM-	8	-23.032891
Pooled Within-Groups Covariance Matrix	8	-20.194884

Box's M	Approximate F	Degrees of freedom	Significance
211.59	1.1248	108,	2878.9 .1823

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 3

List of the 3 Variables used.. ✓

Variable Label

IFNG

IL10

LINF

Classification Results -

Actual Group		No. of Cases	Predicted Group Membership			
			1	2	3	4
Group 1	DM+	10	5 50.0%	2 20.0%	3 30.0%	0 .0%
Group 2	DM-	10	2 20.0%	3 30.0%	3 30.0%	2 20.0%
Group 3	NDM+	10	3 30.0%	0 .0%	6 60.0%	1 10.0%
Group 4	NDM-	10	0 .0%	3 30.0%	1 10.0%	6 60.0%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 50.00%

Classification Processing Summary

40 Cases were processed.

0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.

0 Cases had at least one missing discriminating variable.

40 Cases were used for printed output.



----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by KEL

Analysis number.. 2

Number of Canonical Discriminant Functions.. 3

List of the 8 Variables used..

Variable Label

IFNS  
IL10  
LINF  
PLAS  
PYN  
MO  
MONO  
EOS

Classification Results -

Actual Group		No. of Cases	Predicted Group Membership			
			1	2	3	4
Group	1	10	6	1	3	0
	DM+		60.0%	10.0%	30.0%	.0%
Group	2	10	0	5	3	2
	DM-		.0%	50.0%	30.0%	20.0%
Group	3	10	2	1	6	1
	NDM+		20.0%	10.0%	60.0%	10.0%
Group	4	10	1	2	1	6
	NDM-		10.0%	20.0%	10.0%	60.0%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 57.50%

Classification Processing Summary

40 Cases were processed.

0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.

0 Cases had at least one missing discriminating variable.

40 Cases were used for printed output.

## FORMULIR PERSETUJUAN

Dengan ini saya ;

Nama : .....

Umur : ~~56~~ .. tahun

Jenis kelamin : laki-laki/perempuan

Suku Bangsa : INDONESIA / JAWA

Pekerjaan : MIRASWASTA

Alamat : TULANGAN - SIDOARJO

.....

Setelah memperoleh keterangan dan penjelasan tentang tujuan serta menyadari sepenuhnya akan manfaat dan risiko penelitian yang berjudul " Analisis pola Perubahan Immunopatologik Mukosa Mulut untuk mengungkap Immunopatogenesis Kandidiasis Pada Penderita Diabetes Mellitus " dengan sukarela menyetujui untuk diikutsertakan dalam penelitian ini, dengan catatan apabila sewaktu-waktu merasa dirugikan dalam bentuk apapun berhak membatalkan persetujuan ini.

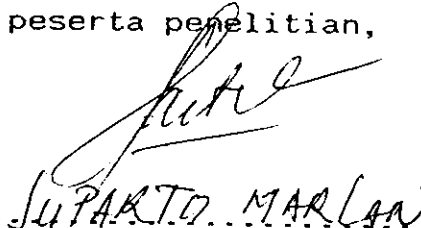
Surabaya, 17 - 3 1978

yang memberikan  
keterangan,



Harlina, drg., M.Kes.

yang menyetujui,  
peserta penelitian,



SUPARTO...MARLAN

Saksi,

.....



**PANITIA KELAIKAN ETIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
( "ETHICAL CLEARANCE" )**

No. 032/PANKE/KKE/1997

PANITIA KELAIKAN ETIK FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA - RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN :

" *Analisis Perubahan Pola Imunopatologik  
Mukosa Mulut Untuk Mengungkapkan*

JUDUL : *Imunopatogenesis Kandidiasis Pada  
Penderita Diabetes Mellitus* "

PENELITI UTAMA : *Drg. Harlina, M.Kes.*

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

*RSUD Dr Soetomo Surabaya*

DINYATAKAN LAIK ETIK .

11 November 1997  
SURABAYA, .....

KETUA I

( *Prof. dr. H.R Hariadi* )