



**IDENTIFIKASI LESI ATEROSKLEROSIS KAROTIS PADA
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI
Candida albicans INTRAVENA**

SKRIPSI

Oleh

**Amalia Rahmaniar Indrati
NIM 121610101018**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**IDENTIFIKASI LESI ATEROSKLEROSIS KAROTIS PADA
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI
Candida albicans INTRAVENA**

SKRIPSI

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

oleh

Amalia Rahmaniar Indrati

NIM 121610101018

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2016

PERSEMBAHAN

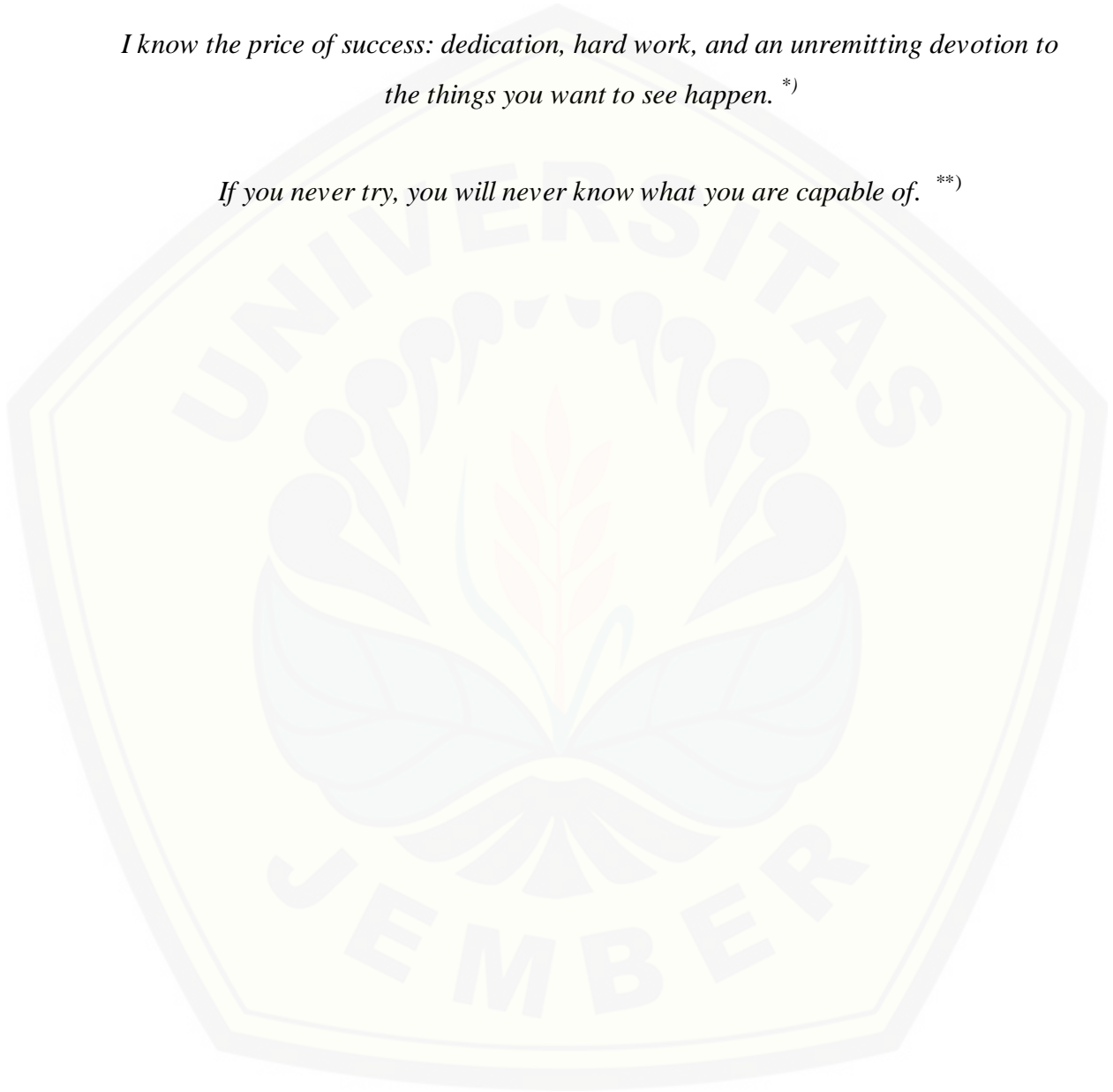
Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Tanah air Indonesia
2. Almamater tercinta saya Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
3. Ibunda saya, Dra. Ririn Hardyati; Ayahanda saya, Drs. Subaidi; adik-adik saya, Rama Satrya Nugraha dan Raka Satrya Nugraha; dan keluarga besar saya.
4. Guru-guru TK, SD, SMP, SMA dan dosen-dosen di Perguruan Tinggi yang telah mengajarkan saya mengenai ilmu pengetahuan di dunia ini.

MOTTO

I know the price of success: dedication, hard work, and an unremitting devotion to the things you want to see happen. ^{)}*

*If you never try, you will never know what you are capable of. ^{**)}*



^{*)} Frank Llyod Wright

^{**)} John Barrow

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Amalia Rahmaniar Indrati

NIM : 121610101018

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Identifikasi Lesi Aterosklerosis Karotis pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi *Candida albicans* Intravena” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 6 April 2016

Yang menyatakan,

Amalia Rahmaniar Indrati

NIM 121610101018

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI LESI ATEROSKLEROSIS KAROTIS PADA
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI
Candida albicans INTRAVENA**

Oleh

Amalia Rahmaniar Indrati

NIM. 121610101018

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Happy Harmono, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Identifikasi Lesi Aterosklerosis Karotis pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi *Candida albicans* Intravena” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

hari, tanggal : Rabu, 6 April 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Rendra Chriestedy P., MD.Sc.

drg. Nadie Fatimatuazzahro, MD.Sc.

NIP. 198305312008011003

NIP. 198204242008012022

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Happy Harmono, M.Kes.

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes.

NIP. 196709011997021001

NIP. 196109031986022001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost.

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Identifikasi Lesi Aterosklerosis Karotis pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi *Candida Albicans* Intravena. Amalia Rahmaniari Indrati. 121610101018; 2016; 101 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Aterosklerosis bersifat asimtomatik dan salah satu etiologinya yaitu infeksi kronis. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa agen mikrobial terlibat dalam patogenesis aterosklerosis, salah satunya adalah *Candida albicans*. *Candida albicans* berpotensi menginduksi aterosklerosis karotis. Penelitian yang pernah dilakukan hanya sebatas penelitian observasional, sedangkan penelitian eksperimental mengenai hubungan kausa efek infeksi *C. albicans* dengan aterosklerosis karotis belum banyak diteliti.

Penelitian eksperimental laboratoris pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) ini menggunakan rancangan *the post test only control group design*. Sampel penelitian adalah 12 ekor tikus wistar jantan, dengan kriteria tikus umur 3-4 bulan dan dalam keadaan sehat. Kelompok penelitian terdiri dari 3 kelompok (masing-masing terdiri dari 4 tikus), yaitu kelompok K (kelompok kontrol), kelompok *Candida* 1 (C 1), diinjeksi 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-10} CFU/ml yang diencerkan di larutan salin, dan kelompok *Candida* 2 (C 2) diinjeksi 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-12} CFU/ml yang diencerkan di larutan salin).

Penelitian dimulai dari tahap adaptasi tikus selama 1 minggu dan persiapan alat dan bahan. Kelompok *Candida* 1 diinjeksikan 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-10} CFU/ml di larutan salin, sedangkan kelompok *Candida* 2 diinjeksikan 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-12} CFU/ml di larutan salin. Kelompok *Candida* 1 dan 2 diinjeksi *C. albicans* sebanyak 5 kali secara intravena pada vena ekor (vena lateral), yaitu pada hari ke-1, ke-4, ke-9, dan ke-16, dan ke-23. Frekuensi injeksi bakteri tersebut untuk membentuk infeksi kronis pada hewan coba. Pada hari ke-29, hewan coba dikorbankan untuk diambil lehernya yang

mengandung arteri karotis komunis bagian bifurkasi yang bercabang menjadi arteri karotis interna dan arteri karotis eksterna. Jaringan difiksasi dengan formalin 10% yang dicampur dengan larutan PBS dengan perbandingan 1:9, kemudian diproses dengan metode *frozen section* untuk membuat preparat histologi dengan pengecatan *Picrosirius Red*, untuk pengamatan ketebalan dinding arteri karotis, disintegrasi kolagen intimal, ateroma serta stenosis, dan pengecatan *Sudan IV* untuk pengamatan denudasi endotel, deposisi lipid dan *fatty streak*.

Tahap pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dan optilab dengan pembesaran 400x dan 1000x. Parameter aterosklerosis yang diamati adalah penebalan dinding arteri karotis, disintegrasi kolagen intimal, ateroma, stenosis, denudasi endotel, deposisi lipid, dan *fatty streak*. Data morfologi disintegrasi kolagen intimal, ateroma, stenosis, denudasi endotel, deposisi lipid, dan *fatty streak* dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*, sedangkan ketebalan dinding arteri analisis dengan uji *One Way ANOVA*.

Hasil penelitian menunjukkan dinding arteri karotis kelompok *Candida* lebih tebal dibandingkan kelompok kontrol, namun hasil analisis data menunjukkan bahwa hasil tidak signifikan ($p > 0,05$). Hasil analisis data pada disintegritas kolagen intimal, denudasi endotel, deposisi lipid dan *fatty streak* tidak signifikan ($p > 0,05$), sedangkan perolehan hasil analisis data secara signifikan ($p < 0,05$) ditemukan pada parameter ateroma dan stenosis.

Aterosklerosis merupakan kondisi penebalan dinding pembuluh darah sebagai hasil proses inflamasi. *Candida albicans* memiliki kemampuan untuk menginduksi terjadinya inflamasi vaskuler. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi *C.albicans* meningkatkan ketebalan dinding arteri, disintegrasi kolagen, deposisi lipid, *fatty streak*, ateroma, stenosis dan denudasi endotel pada arteri karotis.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa *C. albicans* secara intravena berpotensi menginduksi aterosklerosis karotis. Pada penelitian selanjutnya perlu dilengkapi dengan mengukur tingkat keparahan infeksi *C. albicans*, derajat inflamasi sistemik, dan derajat bakterimia yang terjadi

pada model tikus kandidiasis sistemik.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi Lesi Aterosklerosis Karotis pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi *Candida albicans* Intravena”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Proyek BOPTN Kementrian Ristek dan Dikti tahun 2015, diketuai oleh Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes., yang telah mendanai sebagian dari penelitian ini.
2. drg. Happy Harmono, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan motivasi serta penuh kesabaran membimbing saya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
3. drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MD.Sc., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah banyak memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes., Sp. F., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan nasihat, saran dan motivasi;
5. Ibunda tercinta Dra. Ririn Hardyati dan Ayahanda tercinta Drs. Subaidi yang telah memberikan kasih sayang, nasehat, bimbingan, doa dan motivasi bagi saya sampai saat ini.
6. Adik-adik tercinta saya, Rama Satrya Nugraha dan Raka Satrya Nugraha yang telah memberikan segala kasih sayang, canda tawa, dan doa bagi saya;
7. Seluruh keluarga besar saya yang selalu memberikan doa dan motivasi kepada saya.

8. Teman-teman tim penelitian: Vinanti Nur Chumairhoh, Trianike Nor Aini, Ayu Prativia Yonenda, Nervilia Ika Putri, Junti Rosa Veryani, Wulandari Fajrin, Dewi Anggraini, A.A.I Gung Shinta Puspitasari, dan Izza Khalida yang selama ini sudah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini;
9. Sabahat-sahabat tercinta saya: Lelia Zahra Zakkiyah, Ahmad Faris Adli Izzuddin, Yusuf Rizkillah Akbar, dan Farah Alvira yang telah memberikan keceriaan, kasih sayang, doa, motivasi, dan menjadi tempat mencurahkan isi hati baik suka maupun duka;
10. Seluruh staf dan karyawan/karyawati Laboratorium Biomedik Fakultas kedokteran Gigi Universitas Jember;
11. Teman-teman seperjuangan saya di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember angkatan 2012. Terima kasih atas segala kebersamaan dan motivasinya.

Penulis menyadari masih ada ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan yang selanjutnya. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat.

Jember, April 2016

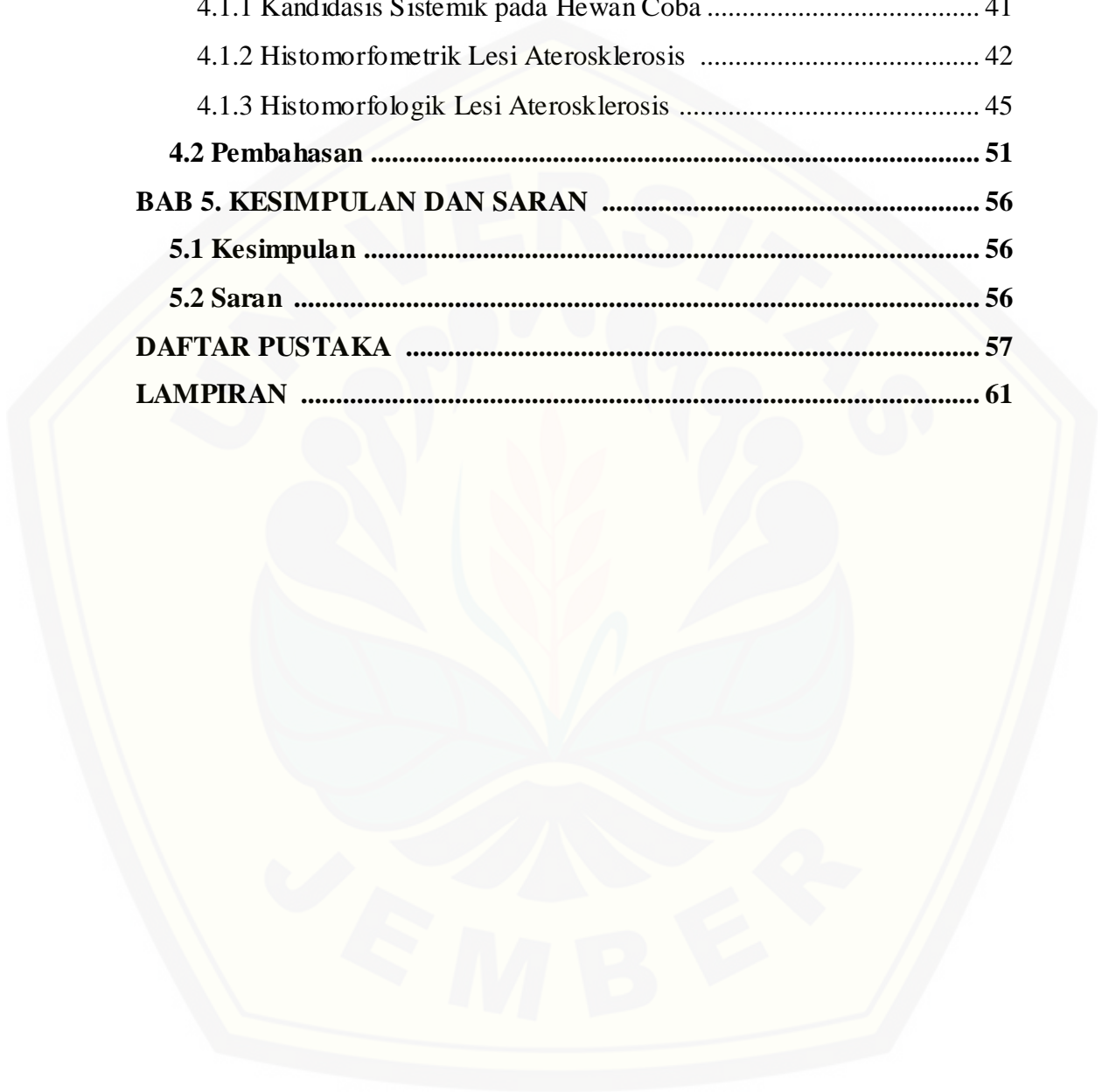
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Candida albicans</i>	4
2.1.1 Pengertian <i>Candida albicans</i>	4
2.1.2 Klasifikasi <i>Candida albicans</i>	4
2.1.3 Morfologi <i>Candida albicans</i>	5
2.1.4 Faktor Virulensi <i>Candida albicans</i>	6
2.1.5 Mekanisme Virulensi <i>Candida albicans</i>	6
2.2 Arteri Karotis	7

2.3 Aterosklerosis.....	9
2.3.1 Pengertian Aterosklerosis	9
2.3.2 Etiologi Aterosklerosis	10
2.3.3 Patogenesis Aterosklerosis	11
2.3.4 Tipe-Tipe Lesi Aterosklerosis	12
2.4 Hubungan Infeksi <i>C.albicans</i> dan Aterosklerosis.....	15
2.5 Kerangka Teori	17
2.6 Hipotesis	18
BAB 3. METODE PENELITIAN	29
3.1 Jenis Penelitian	19
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian	19
3.2.1 Variabel Bebas	19
3.2.2 Variabel Terikat	20
3.2.3 Variabel Terkendali	27
3.4 Obyek Penelitian	27
3.4.1 Kriteria Obyek Penelitian	27
3.4.2 Kriteria Inklusi, Eksklusi dan <i>Drop Out</i>	28
3.4.3 Kelompok Penelitian	28
3.5 Bahan dan Alat Penelitian	29
3.5.1 Bahan Penelitian	29
3.5.2 Alat Penelitian	30
3.6 Prosedur Penelitian	31
3.6.1 Tahap Persiapan dan Pembagian Kelompok Hewan Coba.....	31
3.6.2 Persiapan Bahan Perlakuan.....	32
3.6.3 Pelaksanaan Penelitian	32
3.7 Pengamatan	36
3.8 Analisis Data	39
3.9 Alur Penelitian	40

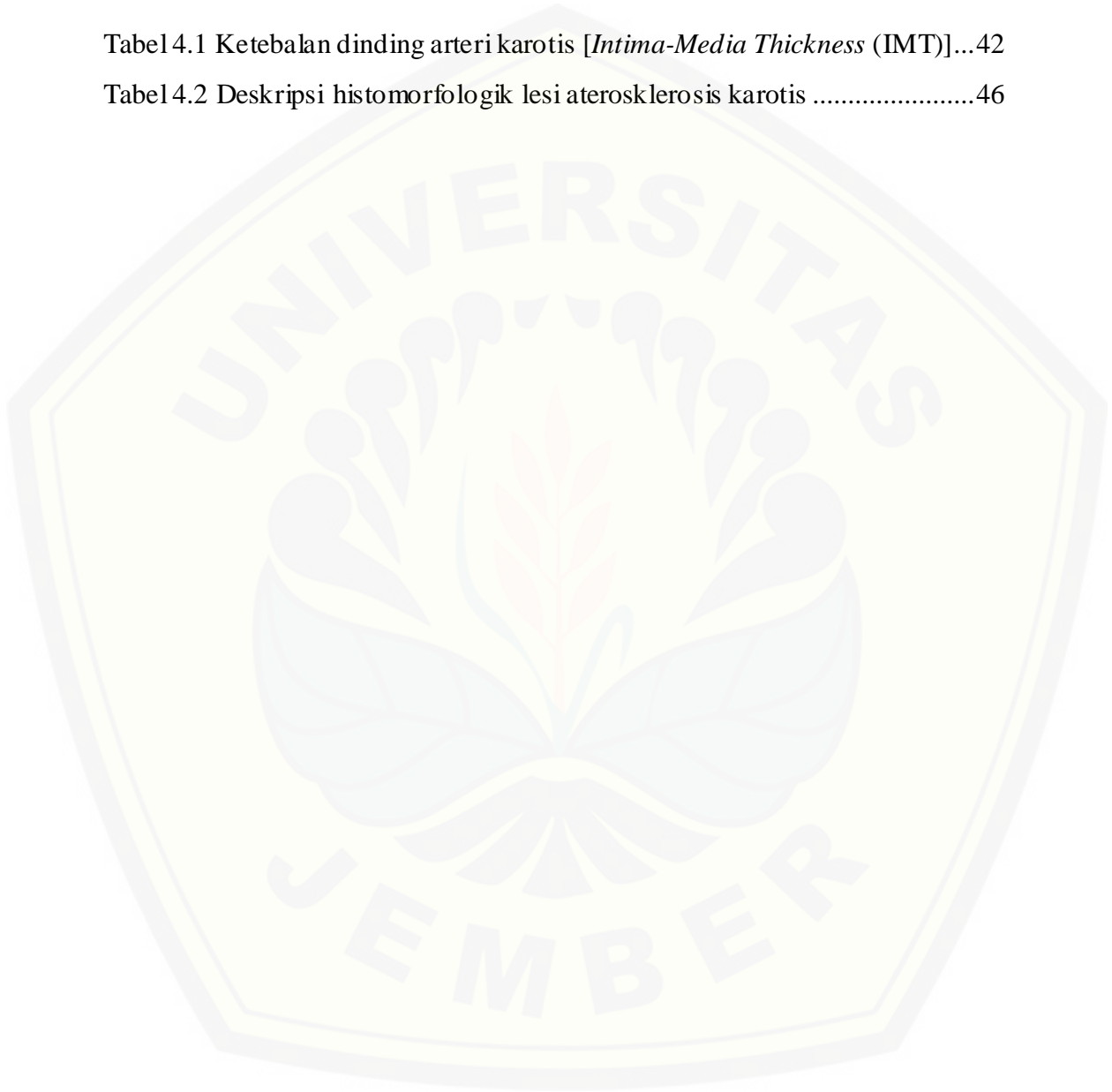
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Hasil Penelitian	41
4.1.1 Kandidasis Sistemik pada Hewan Coba	41
4.1.2 Histomorfometrik Lesi Aterosklerosis	42
4.1.3 Histomorfologik Lesi Aterosklerosis	45
4.2 Pembahasan	51
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	61



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Ketebalan dinding arteri karotis [*Intima-Media Thickness (IMT)*]...42

Tabel 4.2 Deskripsi histomorfologik lesi aterosklerosis karotis46



DAFTAR GAMBAR

2.1	Klamidospora <i>C. albicans</i>	5
2.2	Arteri Karotis.....	8
2.3	Struktur Mikroskopis Dinding Arteri Karotis	8
2.4	Histologi Arteri Karotis.....	9
2.5	Patogenesis Aterosklerosis	11
2.6	Pembentukan Aterosklerosis pada Arteri.....	12
2.7	Disfungsi Endotel (Lesi Inisial) pada Aterosklerosis.....	14
2.8	Disfungsi Endotel (Lesi II) pada Aterosklerosis	14
2.9	Disfungsi Endotel (Lesi Lanjutan) pada Aterosklerosis	14
3.1	Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Karotis dengan 3 Lapang Pandang.....	21
3.2	Gambaran Histomorfologik Deposisi Lipid pada Dinding Arteri dengan Pengecatan <i>Sudan IV</i>	22
3.3	Gambaran Ateroma pada Arteri Karotis Tikus	23
3.4	Gambaran Stenosis (Penyempitan) Arteri Karotis Tikus	24
3.5	Gambaran Disintegrasi Kolagen Intimal Ditandai dengan Diskontinuitas Lapisan Kolagen Intimal.....	25
3.6	Gambaran Denudasi Endotel.....	26
3.7	Gambaran <i>Fatty Streak</i>	27
3.8	Arteri Karotis	33
4.1	Leukosit pada Hapusan Darah Tikus	41
4.2	Nilai Rata-Rata Ketebalan Dinding Arteri Karotis Tikus [<i>Intima-Media Thickness (IMT)</i>]	43
4.3	Ketebalan Dinding, Ateroma, dan Stenosis Arteri Karotis Tikus	44
4.4	Disintegrasi Kolagen Intimal Arteri Karotis Tikus	47
4.5	Denudasi Endotel Arteri Karotis Tikus	48
4.6	Deposisi Lipid Arteri Tikus.....	49

4.7 *Fatty Streak* Arteri Tikus.....50



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Penghitungan Jumlah Sampel	61
Lampiran B. Uji Identifikasi <i>Candida albicans</i>	62
Lampiran C. Alat dan Bahan Penelitian	63
C.1 Alat Penelitian	63
C.2 Bahan Penelitian	66
Lampiran D. Prosedur Penelitian	67
D.1 Proses Perlakuan	67
D.2 Proses Pembedahan Hewan Coba	68
D.3 Proses <i>Frozen Section</i>	69
D.4 Proses Pengecatan Jaringan	69
Lampiran E. Data Hasil Penelitian	71
E.1 Foto Hapusan Darah Perifer Tikus	71
E.2 Hasil Pengamatan Histometrik Lesi Aterosklerosis	72
E.3 Hasil Pengamatan Histomorfologik Lesi Aterosklerosis	73
Lampiran F. Hasil Uji Statistik	79
F.1 Hasil Uji Statistik Parameter Histometrik (Ketebalan Dinding Arteri Karotis)	79
F.2 Hasil Uji Statistik Parameter Histomorfologik (<i>Kruskal Wallis dan Mann Whitney</i>)	80
Lampiran G. Gambaran Histologi Lesi Aterosklerosis Karotis	88
G.1 Ketebalan Dinding Arteri Karotis	88
G.2 Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Karotis	91
Lampiran H. Tabel Berat Badan Tikus	94
Lampiran I. Sertifikat <i>Ethical Clearance</i> Penelitian	95
Lampiran J. Surat Ijin Penelitian	96
Lampiran K. Surat Uji Identifikasi Jamur <i>Candida albicans</i>	100

Lampiran L. Surat Keterangan Spesies Hewan Coba 101



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aterosklerosis karotis merupakan penyebab stroke (penyakit serebrovaskular) yang saat ini menduduki urutan ketiga sebagai penyebab utama kematian setelah penyakit jantung koroner dan kanker di negara-negara berkembang. Negara berkembang menyumbang 85,5% dari total kematian akibat stroke di seluruh dunia, sedangkan prevalensi stroke di Indonesia mencapai angka 8,3% per 1.000 penduduk. Data menunjukkan bahwa stroke menempati urutan pertama sebagai penyebab kematian utama semua umur di Indonesia (Abdullah, 2010).

Aterosklerosis merupakan kondisipenebalan dinding arteri berupa plak atau lesi (ateroma) sebagai hasil dari akumulasi bahan-bahan lemak dan dipicu dengan faktor-faktor lainnya yang disebabkan oleh proses inflamasi (Ross, 2004). Aterosklerosis yang terjadi pada arteri karotis dapat menyebabkan ruptur dan menimbulkan trombus, sehingga menyebabkan gangguan peredaran darah ke otak, sehingga terjadi iskemia dan kematian jaringan di otak. Hal ini dikenal sebagai penyakit stroke iskemik (Price dan Wilson, 2003).

Aterosklerosis bersifat asimtomatik dan salah satu etiologinya yaitu infeksi kronis (Price dan Wilson, 2003). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa agen mikrobial terlibat dalam patogenesis aterosklerosis (Xiaojing *et al.*, 2000). Proses inflamasi yang disebabkan oleh infeksi agen mikrobial ini dapat memicu agregasi dari sel-sel inflamasi dan merusak pembuluh darah serta mampu mempengaruhi metabolisme lemak, koagulasi darah, monosit, makrofag maupun sel endotel. Perubahan ini dapat menyebabkan peningkatan resiko terjadinya aterosklerosis. Salah satu agen mikrobial yang diduga berpengaruh pada pembentukan aterosklerosis adalah *Candida albicans* (*C. albicans*) (Agus dan Yanti, 2010).

Candida albicans merupakan fungi dalam tubuh manusia yang bersifat komensal, namun dapat berubah menjadi patogen oportunistik. *Candida albicans*

dapat menyebabkan infeksi ketika imun tubuh menurun (Naglik *et al.*, 2003). *Candida albicans* memiliki kemampuan untuk menginduksi terjadinya inflamasi pada dinding pembuluh darah dan hal ini bisa berkembang menjadi lesi aterosklerosis.

Hasil penelitian-penelitian sebelumnya ditemukan adanya *C. albicans* pada lesi aterosklerosis. Penelitian dilakukan pada 20 jenazah yang penyebab kematiannya bukan karena korban kekerasan, gejala penyakit infeksius kronis, dan kanker. Pasien diotopsi dalam 24 jam setelah kematiannya. Didapatkan 47 plak aterosklerotik dan 31,9% dari plak tersebut ditemukan adanya *C. albicans*. Penelitian lain menunjukkan bahwa dari 80 pasien dengan *Acute Coronary Syndrome* (ACS) (58 laki-laki, 22 perempuan, rentang usia: 29-85 tahun) terdapat 50 pasien positif memiliki antibodi IgG terhadap *C. albicans* (Nurgeldiyeva *et al.*, 2014).

1.2 Rumusan Masalah

Candida albicans berpotensi menginduksi aterosklerosis karotis. Penelitian yang pernah dilakukan hanya sebatas penelitian observasional, sedangkan penelitian eksperimental mengenai hubungan kausa efek infeksi *C. albicans* dengan aterosklerosis karotis belum banyak diteliti. Oleh karena itu, dapat dirumuskan permasalahan yaitu apakah induksi *C. albicans* secara intravena dapat menginduksi pembentukan lesi aterosklerosis karotis?

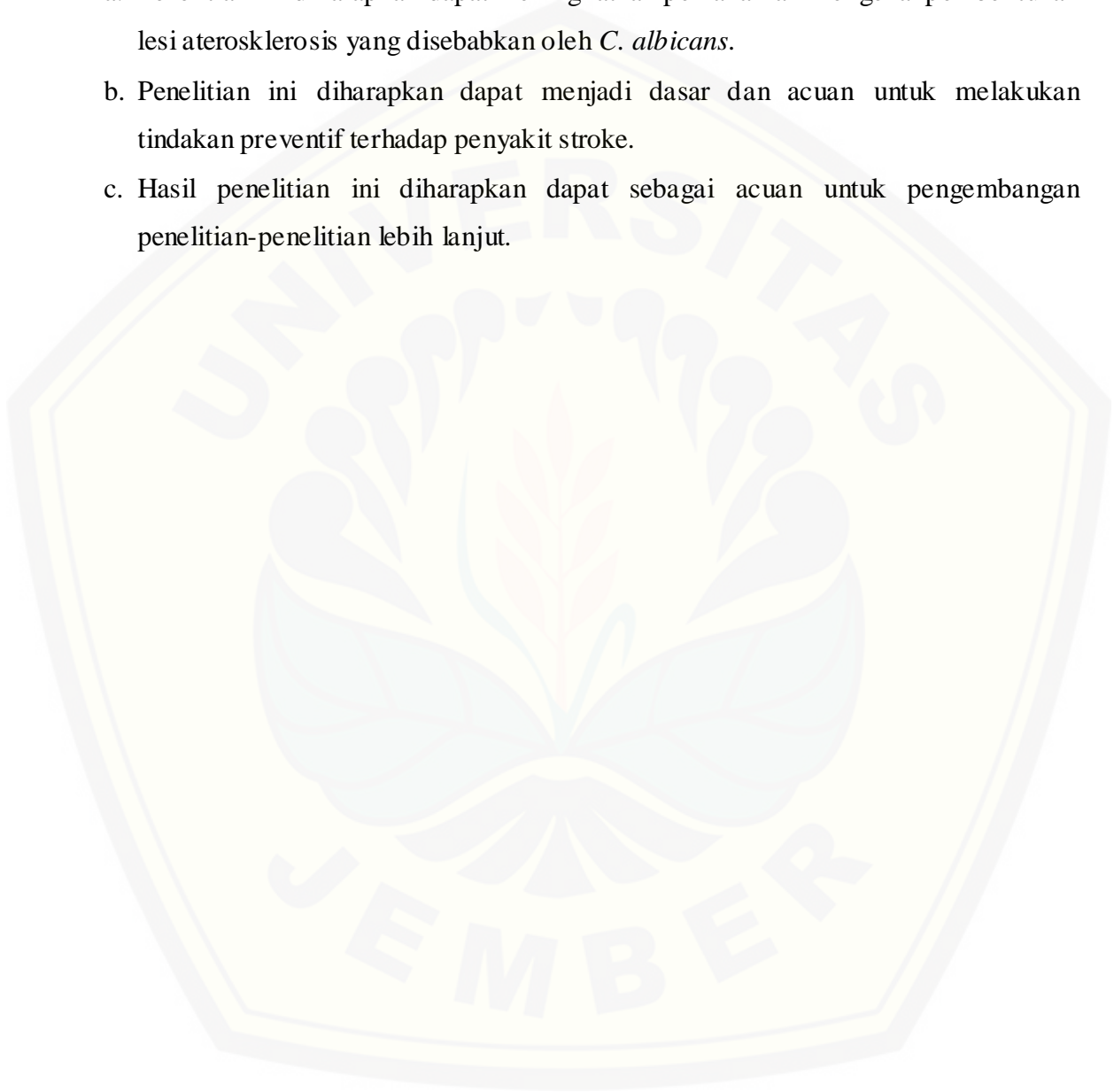
1.3 Tujuan Penelitian

Secara umum, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek induksi *C. albicans* secara intravena pada pembentukan lesi aterosklerosis karotis. Secara khusus, penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi tanda-tanda lesi aterosklerosis karotis meliputi, penebalan dinding arteri, deposisi lipid, ateroma, stenosis, disintegrasi kolagen intimal, denudasi endotel, dan *fatty streak*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini antara lain:

- a. Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemahaman mengenai pembentukan lesi aterosklerosis yang disebabkan oleh *C. albicans*.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dan acuan untuk melakukan tindakan preventif terhadap penyakit stroke.
- c. Hasil penelitian ini diharapkan dapat sebagai acuan untuk pengembangan penelitian-penelitian lebih lanjut.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

2.1.1 Pengertian *Candida albicans*

Candida albicans adalah jenis jamur komensal yang tidak berbahaya, hidup secara alami di dalam tubuh setiap manusia. Dalam tubuh yang sehat, *C. albicans* hidup dalam lingkungan yang seimbang dalam rongga mulut. *Candida albicans* dapat tumbuh terlalu cepat dan berubah menjadi patogen oportunistik ketika terjadi kelemahan pada sel *host* (Boroch, 2009).

Candida albicans berbentuk lonjong, bertunas yang menghasilkan *pseudomiselium* dalam biakan maupun dalam jaringan eksudat. Jamur ini dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob dan anaerob. Pada kondisi anaerob *C. albicans* mempunyai waktu regenerasi yang lebih panjang yaitu 248 menit dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. *Candida albicans* tumbuh baik pada media padat tetapi kecepatan pertumbuhan lebih tinggi pada media cair dengan suhu 37°C. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Wijayanti, 2012). Peningkatan jumlah *C. albicans* dapat mengubah sifat komensal menjadi parasit, yaitu saat bentuk spora menjadi hifa. Bentuk hifa ini merupakan inisiator invasi ke dalam jaringan (Jawetz dan Adelberg, 2007; Soenartyo, 2000).

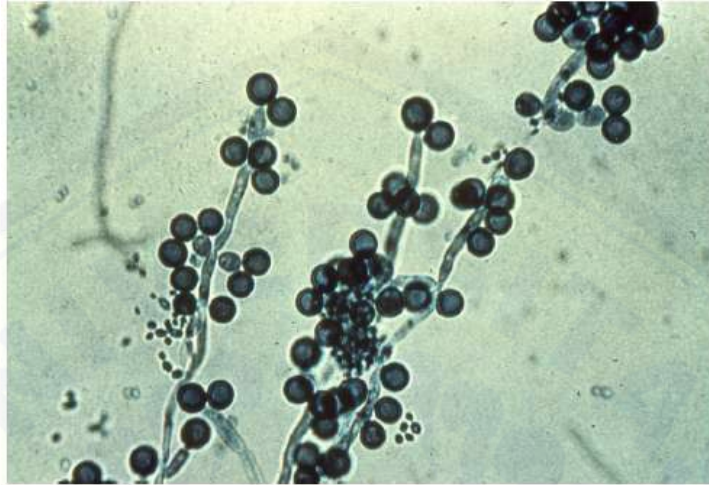
2.1.2 Klasifikasi *Candida albicans*

Klasifikasi *C. albicans* (Jawetz dan Adelberg, 2007) adalah:

Divisi : *Eurocphyta*
Kelas : *Deuteromycetes*
Ordo : *Cryptococcaceae*
Famili : *Candidoidea*

Genus : *Candida*

Spesies : *Candida albicans*



Gambar 2.1 Klamidospora *C. albicans* (Wikipedia, 2015)

2.1.3 Morfologi *Candida albicans*

Morfologi *C. albicans* berupa spora dan hifa semu. Hifa merupakan bentuk invasif dan bersifat patogen. Koloni spesies *C. albicans* sering berubah bentuk sesuai lingkungan dan lokasinya dalam rongga mulut, sebagai bentuk komensal atau patogen oportunistik (Jawetz dan Adelberg, 2007). Pada media *Sabouraud's Dextrose Agar* (SDA), *C. albicans* berbentuk bulat atau oval yang biasa disebut dengan bentuk mikroskopis berupa khamir dengan ukuran 3,5-6 x 6-10 μm (Wijayanti, 2012).

Candida albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan akan membentuk hifa semu. Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong. *Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu yang terbentuk dengan banyak kelompok blastospora yang berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. Pada beberapa strain, blastospora

berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang ber dinding tebal (Wijayanti, 2012).

2.1.4 Faktor Virulensi *Candida albicans*

Faktor virulensi *C. albicans* yang menentukan adalah dinding sel yang merupakan bagian yang berinteraksi langsung dengan sel penjamu, mengandung zat penting untuk virulensinya dan mempunyai sifat immunosupresif sehingga mempertinggi pertahanan *C. albicans* terhadap imunitas penjamu (Wijayanti, 2012). Faktor virulensi lain adalah sifat dimorfik *C. albicans*. Sifat morfologis yang dinamis merupakan cara untuk beradaptasi dengan keadaan sekitar. Dua bentuk utama *C. albicans* adalah bentuk spora dan bentuk pseudohifa (miselium). Perubahan dari komensal menjadi patogen merupakan adaptasi terhadap perubahan lingkungan sekitarnya. Dalam keadaan patogen, *C. albicans* lebih banyak ditemukan dalam pseudohifa atau miselium atau filamen dibandingkan dalam bentuk spora (Tjampakasari, 2006). Kemampuan *C. albicans* berubah bentuk menjadi pseudohifa merupakan salah satu faktor virulensi. Bentuk hifa mempunyai virulensi yang lebih tinggi dibanding dengan bentuk spora, karena (Jawetz dan Adelberg, 2007):

- a. Ukurannya lebih besar dan lebih sulit difagositosis oleh sel makrofag.
- b. Terdapatnya titik-titik blastokonidia multipel pada filamen sehingga jumlah elemen infeksius yang ada lebih besar.

2.1.5 Mekanisme Virulensi *Candida albicans*

Menempelnya *C. albicans* pada jaringan sel pejamu menjadi syarat mutlak untuk berkembangnya infeksi. Interaksi antara mikroorganisme dan sel pejamu diperantarai komponen spesifik dari dinding sel mikroorganisme, adhesin dan reseptor. Manan dan manoprotein merupakan molekul-molekul *C. albicans* yang mempunyai aktifitas adhesif. Kitin yang merupakan komponen kecil pada dinding sel

C. albicans juga berperan dalam aktifitas adhesif. Setelah terjadi proses perlekatan, *C. albicans* berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Enzim yang berperan adalah amino peptidase dan asam fosfatase. Proses penetrasi yang terjadi tergantung dari keadaan imun dari pejamu (Tjampakasari, 2006).

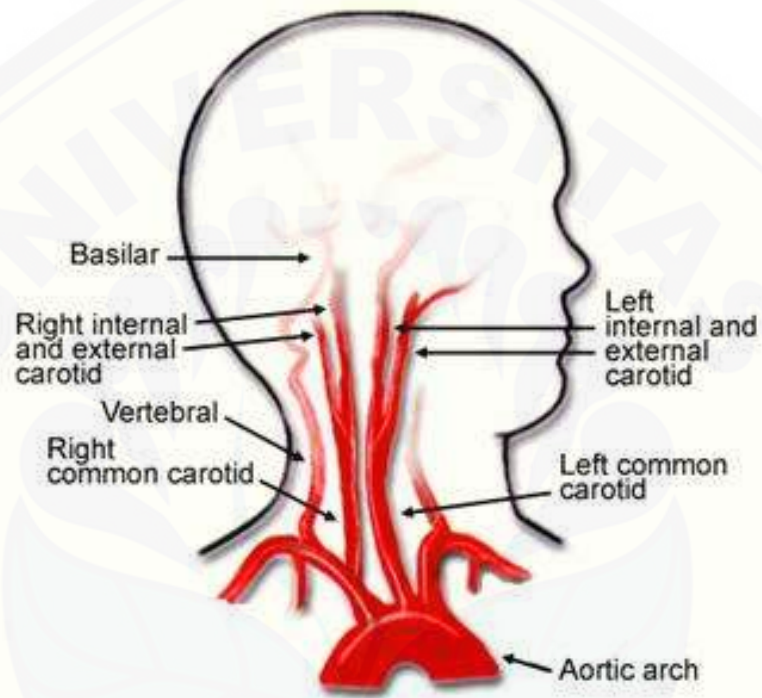
2.2 Arteri Karotis

Arteri karotis adalah pembuluh darah yang memberikan suplai darah ke daerah leher dan kepala, termasuk otak. Arteri karotis merupakan empat arteri utama leher dan kepala. Arteri karotis ini biasanya digunakan untuk palpasi pengukuran denyut jantung pada leher. Arteri karotis berjalan di sisi kanan dan kiri leher, terdiri dari arteri karotis interna dan arteri karotis eksterna, dimana arteri tersebut bercabang dari arteri karotis komunis, kira-kira setinggi kartilago tiroid. Arteri karotis interna masuk ke tengkorak untuk memasok darah ke otak dan mata. Sedangkan, arteri karotis eksterna memiliki beberapa cabang yang memasok darah ke jaringan dari, kulit kepala, mulut, wajah, dan rahang (Muttaqin, 2008).

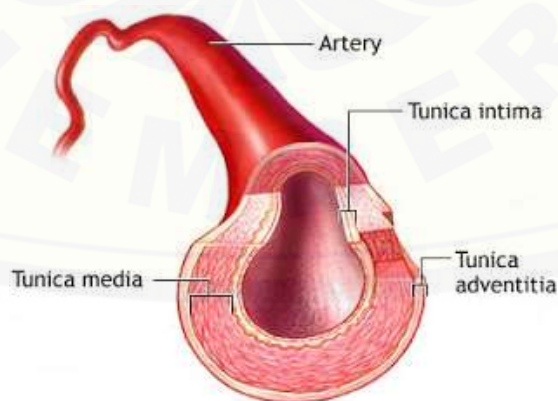
Gambaran struktur mikroskopis dinding arteri karotis dari arah dalam keluar dinding adalah sebagai berikut :

- a. Tunika intima (tunika interna) sebagai lapisan dalam yang terdiri dari selapis sel-sel endotel. Di bawah lamina endotel terdapat jaringan ikat yang sangat tipis, tidak jelas disebut lamina subendotel. Pada lamina subendotel dijumpai serabut-serabut elastik yang tampak kurang jelas. Pada batas tunika intima dengan tunika media terdapat membran yang terdiri dari serabut-serabut elastik yang kelihatan lebih jelas, bergelombang dengan arah sirkuler disebut sebagai membran elastika internal.
- b. Tunika media adalah lapisan serabut otot polos yang mempunyai arah sirkuler dengan susunan serabut-serabut yang rapat dan diantaranya terdapat serabut-serabut elastik. Lapisan ini dua kali lebih tebal dibanding dengan tunika intima.

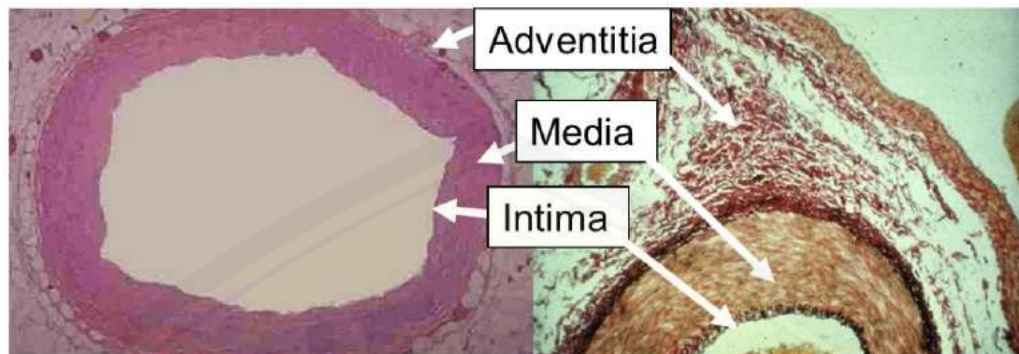
- c. Tunika adventitia menyelubungi tunika media dari sebelah luar, terdiri dari jaringan ikat fibroelastik yang lebih tipis dari tunika media. Terdapat lamina elastika eksterna sebagai batas tunika media dan tunika adventitia, namun lapisan ini tidak setebal dan sejelas lamina elastika interna (Suryohudoyo, 2002).



Gambar 2.2 Arteri Karotis (Boston University Public Health, 2015)



Gambar 2.3 Struktur Mikroskopis Dinding Arteri Karotis (Fauziah, 2010)



Gambar 2.4 Histologi Arteri Karotis (Boston University Public Health, 2015)

2.3 Aterosklerosis

2.3.1 Pengertian Aterosklerosis

Aterosklerosis berasal dari kata *atero* yang dalam bahasa Yunani disebut *atera* yang artinya adalah suatu bentuk yang menunjukkan degenerasi lemak atau hubungan dengan ateroma. Sklerosis dalam bahasa Yunani artinya adalah indurasi dan pengerasan, seperti pengerasan karena peradangan, pembentukan jaringan ikat yang meningkat (Dorland, 2006).

Aterosklerosis adalah kondisi suatu penebalan dinding pembuluh darah sebagai suatu hasil dari akumulasi bahan-bahan lemak dan dipicu dengan faktor-faktor lainnya (Mayo, 2005). Aterosklerosis diartikan sebagai pengerasan pembuluh darah yang disebabkan karena penumpukan lemak dan substansi lain (Mayo, 2005; Constantinides, 2004; Suryohudoyo, 2002; Suryadipradja, 2002).

Aterosklerosis ditandai dengan adanya akumulasi lemak ekstrasel, dan akumulasi leukosit, pembentukan sel busa, migrasi dan proliferasi miosit, deposit matriks ekstrasel, yang memicu keadaan multifaktor yang bersifat kronik progresif, bermanifestasi akut maupun kronik, serta menimbulkan penebalan dan kekakuan arteri (Ross dan Mealey, 2004). Aterosklerosis dapat mempengaruhi pembuluh darah

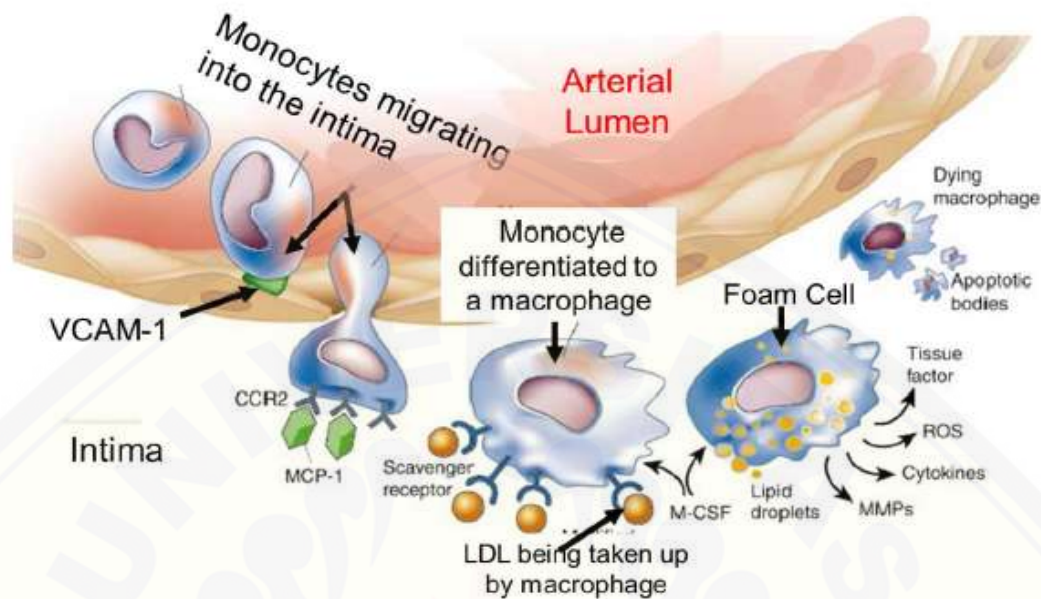
pada semua anggota tubuh, seperti arteri pada jantung, otak, panggul dan alat gerak (NHLBI, 2006).

2.3.2 Etiologi Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan penyakit vaskuler yang kompleks, memiliki banyak bentuk, dapat bersifat kronis dan progresif, terjadi pada pembuluh darah besar hingga sedang (aorta, arteri karotis, dan arteri pulmonalis) yang secara perlahan mampu menyumbat dinding pembuluh darah, terutama pada dinding pembuluh darah tempat percabangan. Penyebab aterosklerosis adalah multifaktorial, artinya dapat disebabkan oleh banyak faktor. Beberapa penyebabnya adalah faktor genetik, faktor gaya hidup (kebiasaan makan makanan yang mengandung kolesterol, merokok, kurang olahraga, dan stress), faktor resiko lain (dislipidemia, tekanan darah tinggi, merokok, diabetes mellitus, obesitas), dan intensitas serta lama paparan faktor lingkungan (hemodinamik, metabolik, kimiawi eksogen, infeksi virus dan bakteri, faktor imunitas dan faktor mekanis) (Constantinides, 2004; Suryohudoyo, 2002).

2.3.3 Patogenesis Aterosklerosis

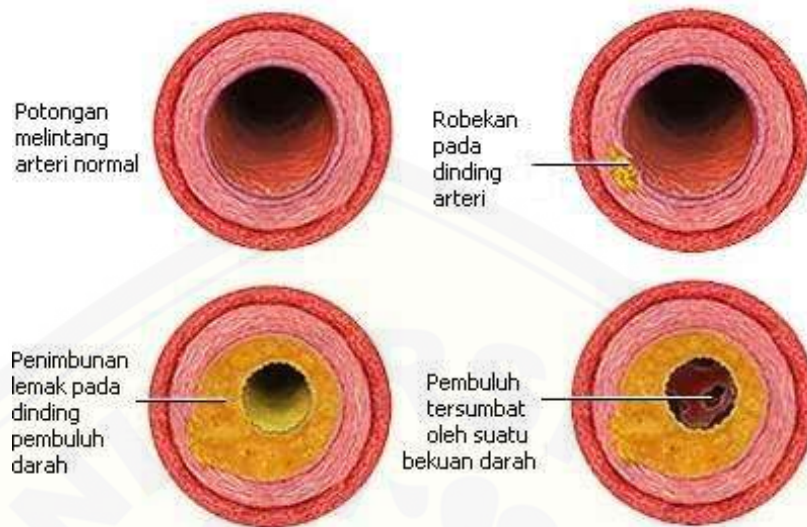
Proses aterosklerosis dimulai dari timbulnya lesi tipis akibat terbentuknya sel busa (*foam cell*), menebalnya dinding arteri karena adanya *injury*, reaksi proliferasi, dan deposisi lemak pada daerah *injury* (Constantinides, 2004; Suryohudoyo, 2002; Junaidi, 2004). Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang tinggi merupakan *injury* utama endotel. Saat terjadi inflamasi, monosit dan LDL akan berinfiltrasi ke dinding pembuluh darah. Monosit masuk ke tunika intima dibantu dengan molekul adhesi *Vascular Cell Adhesion Molecule* (VCAM-1). Monosit yang masuk ke tunika intima berubah menjadi makrofag, sedangkan LDL mengalami modifikasi oleh aktivitas *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) (hasil dari stimulasi *nitric oxide* dan enzim *lipooxygenase*) menjadi LDL teroksidasi (LDL-oks). Makrofag memfagosit LDL-oks melalui reseptor *scavenger* sehingga terbentuk sel busa (*foam cell*) (Ross dan Mealey, 2004; Hannson, 2005).



Gambar 2.5 Patogenesis Aterosklerosis (Boston University Public Health, 2015)

Ada teori yang menerangkan tentang proses aterogenesis, yaitu reaksi terhadap *endothelial injury*. Aterosklerosis merupakan suatu respon terhadap inflamasi yang kronik pada dinding arteri yang diawali dengan *injury* pada endotel. Proses tersebut yaitu :

- Injury* endotel yang kronik.
- Terjadinya disfungsi endotel, perlekatan monosit dan platelet ke endotel pembuluh darah, dan monosit mengalami emigrasi dari lumen ke lapisan intima.
- Sel-sel otot polos mengalami migrasi dari lapisan media ke intima. Makrofag mengalami aktivasi.
- Makrofag dan sel otot polos memakan lemak, sehingga menimbulkan penumpukan lemak, terutama pada intima.
- Timbul plak, proliferasi otot polos serta penumpukan *extraceluler matrix*, kolagen, dan *extraceuler lipid* (Agus dan Yanti, 2010).



Gambar 2.6 Pembentukan Aterosklerosis pada Arteri (Ross dan Mealey, 2004)

2.3.4 Tipe-Tipe Lesi Aterosklerosis

Lesi aterosklerosis, terutama terjadi pada arteri elastis berukuran sedang dan besar serta arteri muskularis, dapat menimbulkan iskemi jantung, otak atau ekstremitas yang menyebabkan terjadinya infark. *The American Heart Association Commitee on Vascular Lesion* menentukan klasifikasi perkembangan lesi ini menjadi 6 (enam) fase. Sistem klasifikasi ini berkaitan dengan fase klinis dari pembentukan lesi aterosklerosis (Ross dan Mealey, 2004).

a. Lesi Aterosklerosis tipe I

Lesi aterosklerosis tipe I atau *initial lesion* menunjukkan adanya perubahan awal yang bisa dideteksi secara mikroskopik. Pengamatan pada mikroskop menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel busa pada lapisan tunika intima dan penebalan adaptif pada tunika intima (Ross dan Mealey, 2004).

b. Lesi Aterosklerosis tipe II

Lesi tipe II (garis lemak) terdapat garis-garis, bercak atau bintik berwarna kuning di permukaan tunika intima. Pada tipe II terdiri atas miosit berisi butiran

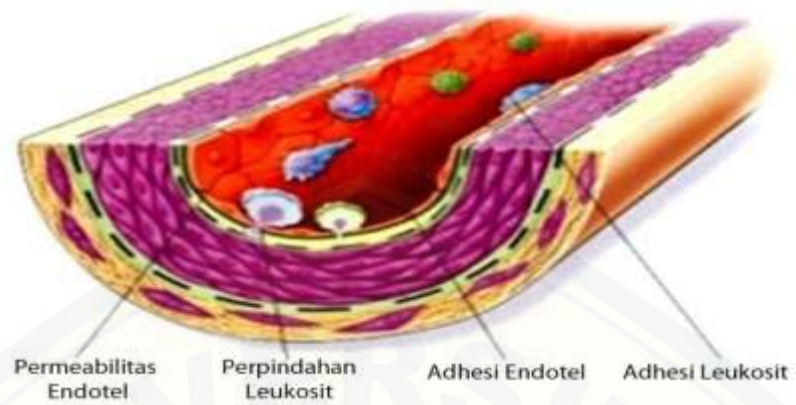
lemak, sel busa berlapis, sel limfosit T, sel mast di permukaan tunika intima, disertai butiran heterogen lipid ekstrasel, dan sejumlah besar makrofag tanpa butiran lemak. Garis lemak terdiri atas limfosit T yang mengandung sel busa yang bergabung dengan sejumlah sel miosit, monosit, dan makrofag. Tahapan pembentukan garis lemak meliputi; (1) migrasi miosit yang distimulasi oleh *Platelet Derived Growth Factor*, *Fibroblast Growth Factor 2* dan TGF, (2) aktivasi sel T yang diperantai oleh TNF- α , Interleukin-2 (IL-2) dan *Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*, (3) pembentukan sel busa yang diperantai oleh LDL-oks, TNF- α , *Macrophage Colony Stimulating Factor*, Interleukin-1 (IL-1), (4) adhesi dan agregasi platelet yang dirancang oleh integrin, tromboskan A2, P-selektin, fibrin, faktor jaringan dan faktor lain (Ross dan Mealey, 2004).

c. Lesi Aterosklerosis tipe III

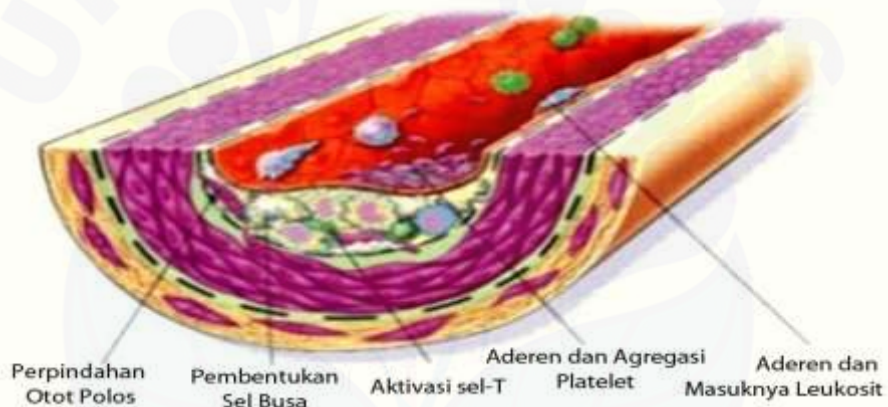
Lesi tipe III disebut juga lesi intermedia atau lesi transisional atau lesi preateroma, merupakan jembatan morfologis dan kimiawi antara lesi tipe II dan lesi tipe lanjut (tipe IV). Pada lesi ini terdapat adanya timbunan partikel lipid ekstrasel yang identik dengan lesi tipe II. Lapisan miosit mengalami penebalan adaptif di tunika intima. Timbunan lipid yang lebih banyak dan tebal terletak tepat di bawah lapisan makrofag dan sel busa, menggantikan serabut proteoglikan intersel dan matriks, serta mendorong dan memisahkan miosit (Ross dan Mealey, 2004).

d. Lesi Aterosklerosis tipe lanjut (IV, V dan VI)

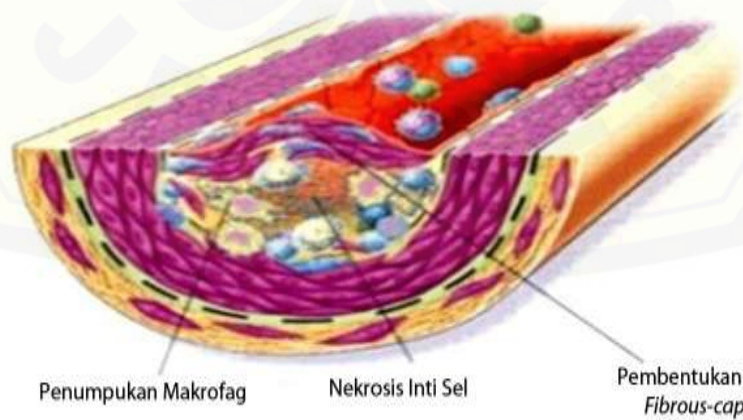
Lesi lanjutan (tipe IV, V, VI) menunjukkan adanya lipid ekstrasel yang besar dan dapat merusak tunika intima, serta terdapat mekanisme trombotik yang lebih menonjol dalam mempercepat terjadinya aterosklerosis. Pada lesi tingkat akhir (lesi tipe VI) deposit lipid telah memodifikasi jaringan sampai ke tunika media dan adventitia. Lesi ini membentuk sumbatan fibrosa yang memisahkan lesi dengan lumen arteri dan menutupi leukosit, lipid, serta debris yang membentuk inti nekrosis (Ross dan Mealey, 2004).



Gambar 2.7 Disfungsi Endotel (Lesi Inisial) pada Aterosklerosis (Ross dan Mealey, 2004)



Gambar 2.8 Disfungsi Endotel (Lesi II) pada Aterosklerosis (Ross dan Mealey, 2004)



Gambar 2.9 Disfungsi Endotel (Lesi Lanjutan) pada Aterosklerosis (Ross dan Mealey, 2004)

2.4 Hubungan Infeksi *C. albicans* dan Aterosklerosis

Candida albicans merupakan flora normal rongga mulut yang paling terkait dengan terjadinya infeksi jamur. Dalam rongga mulut, *C. albicans* dapat melekat pada mukosa labial, mukosa bukal, dorsum lidah, dan daerah palatum. Sebuah penelitian didapatkan bahwa dari 90 pasien stenosis arteri, sebesar sekitar 67,7% memiliki kolonisasi *C. albicans* dalam rongga mulutnya. Hal ini menunjukkan bahwa prevalensi kandidiasis lebih tinggi daripada kelompok kontrol yang sebesar 54,4% (Sarvtin *et al.*, 2012). Penelitian tersebut menyatakan bahwa terdapat hubungan antara kandidiasis dan aterosklerosis.

Candida albicans dapat menyebabkan infeksi ketika imun tubuh menurun. Menurut Nurgeldiyeva *et al.*, (2014) *C. albicans* memiliki kemampuan untuk menginduksi terjadinya inflamasi pada dinding pembuluh darah dan hal ini bisa berkembang menjadi lesi aterosklerosis. *Candida albicans* dapat memasuki peredaran darah dengan menggunakan enzim hidrolitik dan berpindah ke bagian tubuh lain sehingga menyebabkan kerusakan *inner walls* pada arteri. *Candida albicans* terlibat dalam pembentukan lesi dalam pembuluh darah dengan agregasi platelet dan adhesi pada sel endotel. Hal tersebut memperkuat dugaan bahwa *C. albicans* berperan dalam pembentukan lesi aterosklerosis (Naglik *et al.*, 2003).

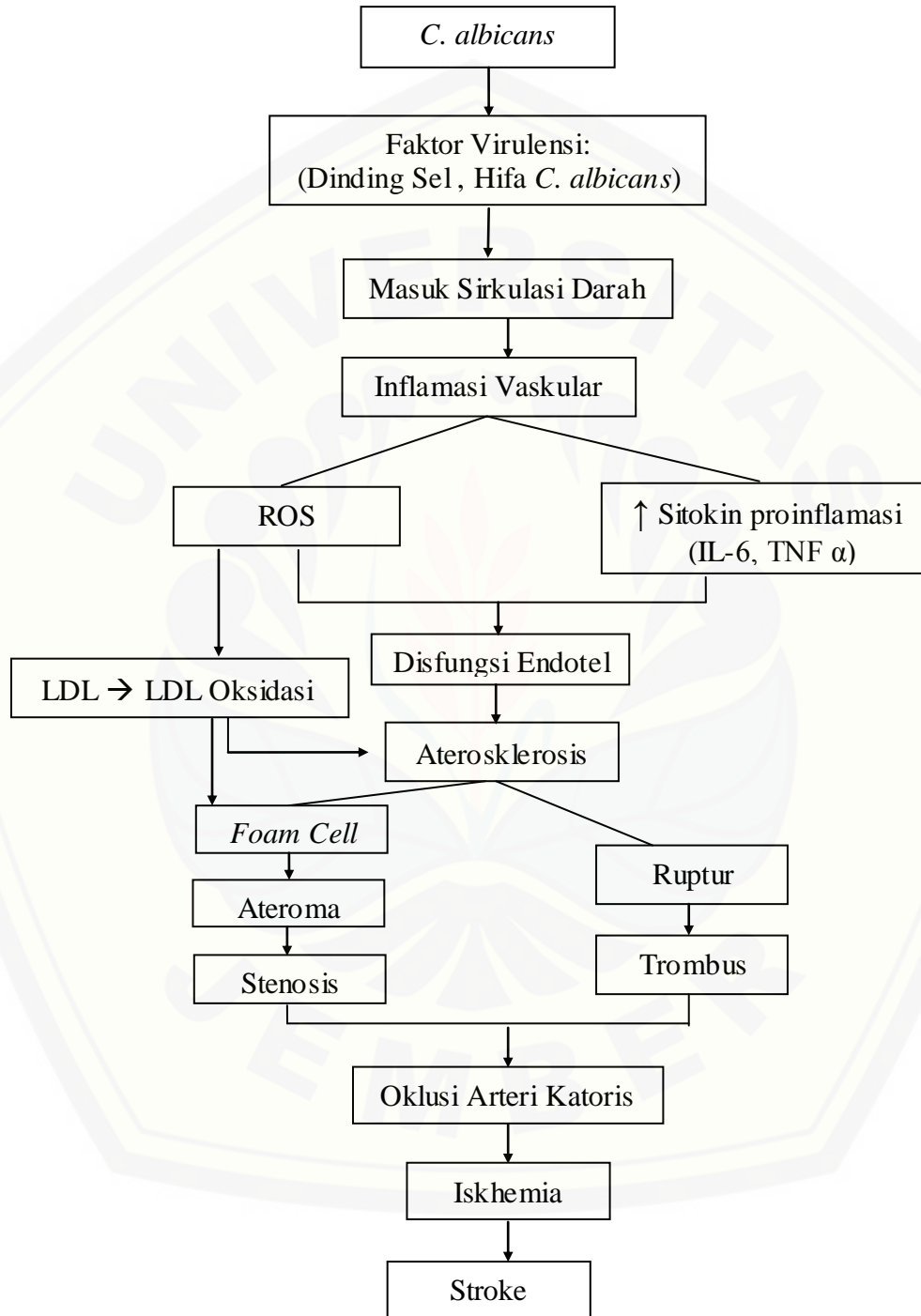
Candida albicans menyebabkan aterosklerosis karena *endothelial injury* pada dinding arteri dan menstimulus proses autoimun pada tubuh. *Candida albicans* menyebabkan inflamasi arteri, dan menginduksi sekresi sitokin yang sangat berperan dalam terbentuknya aterosklerosis. Sitokin ini menstimulus terbentuknya interferon gamma yang menjadi proses autoimun kemunculan lesi aterosklerosis (Sarvtin *et al.*, 2012).

Candida albicans memiliki jumlah *aspartyl proteinase gene* tinggi, yang melengkapi proses penetrasi ke dalam endotel pembuluh darah (Naglik *et al.*, 2003; Whit dan Agabian, 1995). Di dalam pembuluh darah, *C. albicans* mensekresi hemolisin dan menghasilkan hemoglobin dari sel darah merah. Hemoglobin berfungsi untuk mengekspresikan gen yang terlibat dalam produksi sel-sel tubuh *C. albicans*

dan menstimulus reseptor fibronectin dan meningkatkan adhesi pada endotel (Pendrak dan Roberts, 2007; Yan *et al.*, 1996).

Peningkatan adhesi *C. albicans* pada endotel menyebabkan terbentuknya formasi plak aterosklerosis dalam pembuluh darah. Beberapa sitokin disekresi oleh sel *leucocytes injure endothelial*. *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan Interleukin-6 (IL-6) merupakan jenis sitokin yang penting dalam mekanisme aterosklerosis dengan *C. albicans*. TNF- α mengaktifasi sel inflamasi dan memproduksi enzim metalloproteinase untuk melepaskan plak aterosklerosis dan berpindah ke pembuluh darah, sehingga menyebabkan penimbunan plak dan penyempitan dalam pembuluh darah. IL-6 menstimulasi protein fase akut yang dikenal sebagai protein *C-Reactive Protein* (CRP) di dalam hati yang juga dapat berkontribusi dalam PJK (Sarvatin *et al.*, 2012). Enzim ini dapat sangat reaktif dan mampu meningkatkan deposit pada pembuluh darah yang terluka, mengikat sel yang rusak, memperbaiki sel yang rusak dan mengaktifkan neutrofil. Peningkatan kadar CRP merupakan penanda peradangan sistemik yang menjadi faktor risiko untuk penyakit kardiovaskuler (Ross dan Mealey, 2004).

2.5 Kerangka Teori



2.6 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu induksi *C. albicans* secara intravena dapat menimbulkan pembentukan lesi aterosklerosis karotis.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*, yaitu dengan melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan sesuai waktu yang telah ditentukan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2005).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk proses perlakuan hewan coba dan pengecatan jaringan. Peremajaan dan pembuatan suspensi jamur *Candida albicans* dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sedangkan pemrosesan jaringan dengan metode *Frozen Section* dikerjakan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni – Desember 2015.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *C. albicans* intravena.

a. Definisi Operasional

C. albicans merupakan jamur yang hidup pada manusia, bersifat komensal dan bisa menjadi patogen oportunistik jika tumbuh dengan cepat dan pada keadaan tertentu. Jenis *C. albicans* yang digunakan dalam penelitian ini adalah (ATCC 10231).

b. Metode

Candida albicans dipaparkan pada tikus Wistar jantan secara injeksi intravena melalui vena ekor (vena lateral). Injeksi *C. albicans* dilakukan menggunakan syringe 1 ml (*insulin syringe*). Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi $10^{-10}CFU/ml$ dan $10^{-12}CFU/ml$ yang diencerkan di larutan salin. Injeksi dilakukan dengan metode interval berjenjang sebanyak 5 kali, yaitu pada hari ke-1, ke-4, ke-9, ke-16, dan ke-23.

c. Parameter

Terjadinya infeksi *C. albicans* ditandai dengan adanya peningkatan jumlah sel inflamasi pada hapusan darah perifer.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran lesi aterosklerosis karotis, meliputi penebalan dinding arteri, deposisi lipid, ateroma, stenosis, disintegrasi kolagen intimal, denudasi endotel, dan *fatty streak*.

a. Ukuran Ketebalan Dinding Arteri Karotis (Histomorfometrik)

1) Definisi Operasional

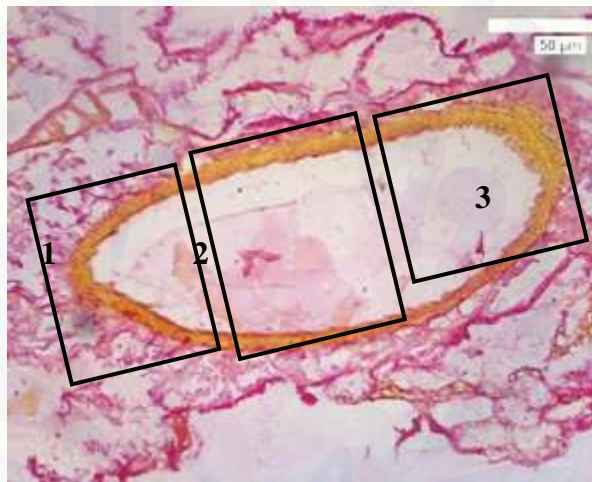
Ukuran ketebalan dinding arteri karotis adalah dinding arteri yang menjorok ke lumen dengan hasil pengukuran ketebalan lapisan intima-media dinding arteri karotis [*Intima-Media Thickness* (IMT)] pada potongan melintang arteri karotis.

2) Parameter

Ukuran ketebalan dinding arteri karotis dalam mikrometer (μm).

3) Metode Analisis

Leher yang mengandung arteri karotis dipotong melintang, dan dilakukan pengecatan *Picrossirius Red*. Ketebalan dinding arteri karotis yang menjorok ke lumen diukur dengan *image raster* optilab dengan metode *Intima-Media Thickness* (IMT), dipilih 3 lapang pandang pada setiap sampel, dan dari setiap lapang pandang dipilih daerah yang paling tebal. Pengukuran ketebalan arteri karotis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Pengukuran dilakukan oleh 3 orang pengamat.



Gambar 3.1 Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Karotis dengan 3 Lapang Pandang

b. Analisis Deposisi Lipid

1) Definisi Operasional

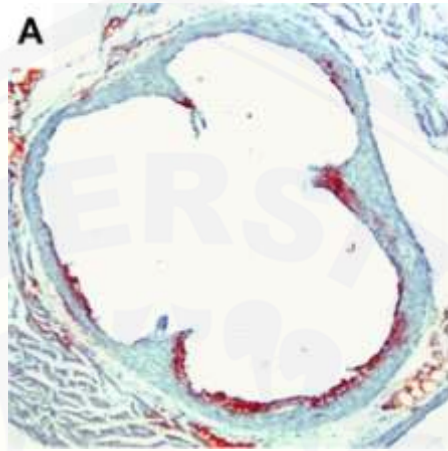
Deposisi lipid merupakan kondisi pengumpulan lemak di dinding arteri yang ditandai oleh warna merah pada preparat arteri karotis yang telah dilakukan pengecatan *Sudan IV*.

2) Parameter

Adanya deposisi lipid pada dinding arteri pada setiap spesimen arteri.

3) Metode Analisis

Deposisi lipid diamati pada preparat histologis arteri karotis. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 1000x) dan optilab. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang.



Gambar 3.2 Gambaran Histomorfologik Deposisi Lipid (warna merah) pada Dinding Arteri dengan Pengecatan *Sudan IV* (Caroline, 2003)

c. Analisis Ateroma

1) Definisi Operasional

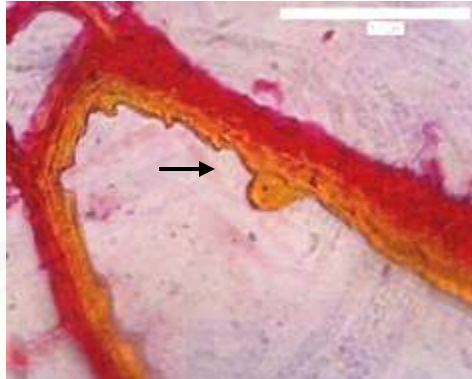
Ateroma adalah penonjolan dinding pembuluh darah bagian dalam (lapisan intima) ke arah lumen dengan pengecatan *Picrosirius Red*. Dinding pembuluh darah yang normal adalah halus, rata atau tidak terdapat penonjolan pada lapisan intima.

2) Parameter

Adanya ateroma arteri pada setiap spesimen arteri.

3) Metode Analisis

Adanya ateroma ditandai dengan adanya penonjolan dinding pembuluh darah dalam (lapisan intima) yang menjorok ke lumen, diamati dengan preparat histologis arteri karotis menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 400x) dan optilab.



Gambar 3.3 Gambaran Ateroma pada Arteri Karotis Tikus (Ditunjuk Panah Hitam)

d. Analisis Stenosis

1) Definisi Operasional

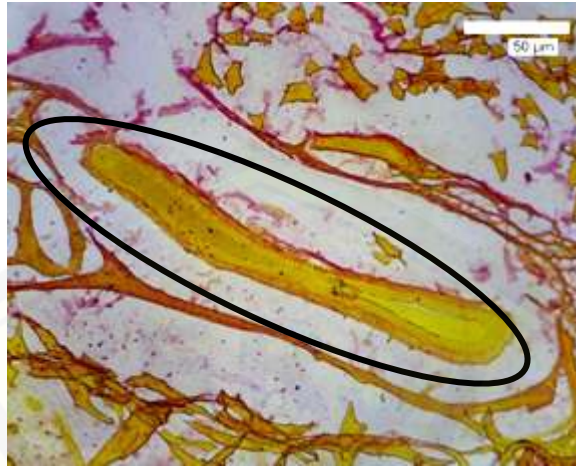
Stenosis adalah penyempitan lumen arteri karotis sehingga hampir terjadi oklusi pada dinding arteri yang menyebabkan bentuk arteri karotis tidak membulat. Preparat dilakukan pengecatan *Picrosirius Red*. Pembuluh darah yang normal tidak terdapat stenosis.

2) Parameter

Adanya stenosis pada setiap spesimen arteri.

3) Metode Analisis

Adanya stenosis ditandai dengan penyempitan lumen dalam pembuluh darah sehingga hampir terjadi oklusi dinding pembuluh darah, diamati dengan preparat histologis arteri karotis menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 400x) dan optilab. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang.



Gambar 3.4 Gambaran Stenosis (Penyempitan) Arteri Karotis Tikus (Dilingkari)

e. Analisis Disintegrasi Kolagen Intimal

1) Definisi Operasional

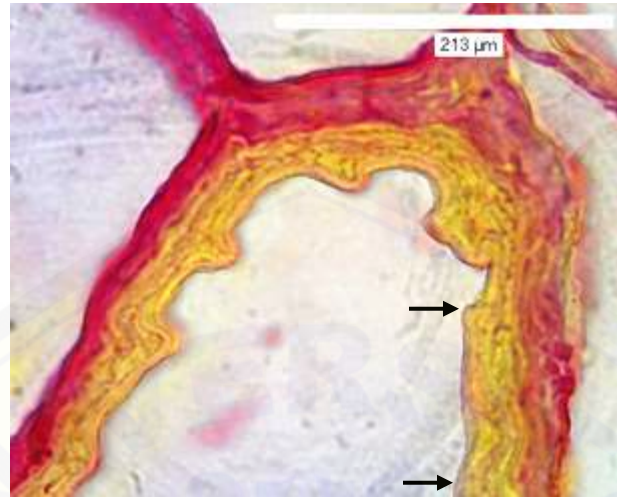
Disintegrasi kolagen intimal merupakan kerusakan pada lapisan kolagen intima dinding arteri karotis yang terlihat adanya penipisan atau diskontinuitas kolagen intimal dengan pengecatan *Picrosirius Red* dan lapisan kolagen tercat merah.

2) Parameter

Adanya disintegrasi atau diskontinuitas lapisan kolagen intimal, ditandai dengan diskontinuitas lapisan warna merah (kolagen) pada tunika intimal.

3) Metode Analisis

Pengamatan disintegrasi kolagen diamati di bawah mikroskop cahaya (pembesaran 1000x) dan optilab. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang.



Gambar 3.5 Gambaran Disintegrasi Kolagen Intimal Ditandai dengan Diskontinuitas Lapisan Kolagen Intimal (Ditunjuk Panah Hitam)

f. Analisis Denudasi Endotel

1) Definisi Operasional

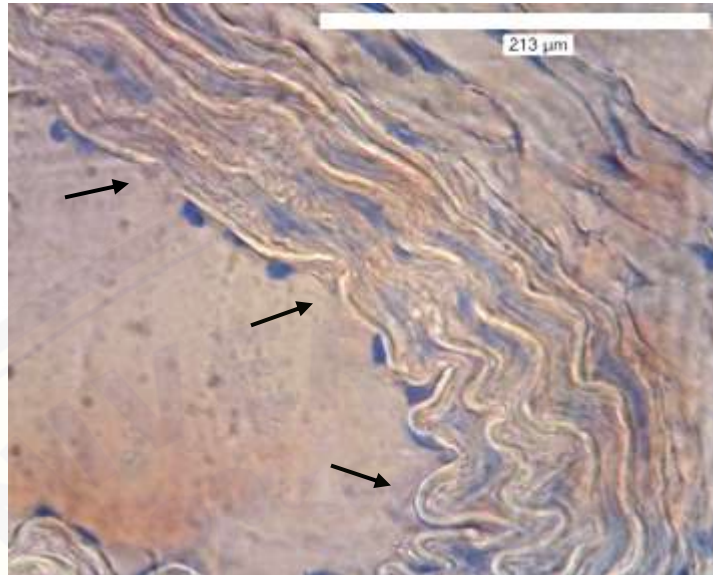
Denudasi endotel adalah perubahan morfologi lapisan endotel berupa kerusakan endotel yang tidak teratur dan atau hilangnya endotel pada lapisan tunika intima dari arteri karotis yang telah dilakukan pengecatan *Sudan IV* dengan *cross stain Mayer's Hematoxilin*. Endotel tercat biru. Lapisan endotel yang normal ditandai dengan tidak terdapat kerusakan (disintegrasi) pada lapisan intima.

2) Parameter

Adanya diskontinuitas dan atau pelepasan endotel.

3) Metode Analisis

Adanya denudasi endotel diamati pada lapisan tunika intima preparat histologis arteri karotis. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 1000x) dan optilab. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang.



Gambar 3.6 Gambaran Denudasi Endotel Ditandai dengan Endotel yang Hilang dan Endotel Tidak Teratur pada Lapisan Intima (Ditunjuk Tanda Panah)

g. Analisis *Fatty Streak*

1) Definisi Operasional

Fatty streak (lapisan lemak) merupakan lapisan *foam cell* yang berisi lemak yang terdapat dalam ateroma yang menonjol ke lumen, diamati pada preparat histologis arteri karotis yang telah dilakukan pengecatan dengan *Sudan IV* dan ditandai dengan warna merah kekuningan atau coklat kekuningan.

2) Parameter

Adanya *fatty streak* arteri pada setiap spesimen arteri.

3) Metode Analisis

Adanya *fatty streak* (lapisan lemak) ditandai dengan lapisan *foam cell* yang berisi lemak yang terdapat dalam ateroma yang menonjol ke lumen, diamati pada preparat histologis arteri karotis menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 1000x) dan optilab. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang.



3.7 Gambaran *Fatty Streak* yang Ditandai dengan Adanya Lemak (Dilingkari)

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah :

- a. Kriteria hewan coba
- b. Prosedur penelitian
- c. Diet tikus
 - 1) Makanan tikus (pakan standar tikus merk Turbo, Indonesia).
 - 2) Minuman tikus (air mineral merk Aqua, Indonesia).

3.4 Obyek Penelitian

3.4.1 Kriteria Obyek Penelitian

Obyek penelitian adalah tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria obyek sesuai kriteria inklusi.

3.4.2 Kriteria Inklusi, Eksklusi dan *Drop Out*

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah jenis tikus yang digunakan dalam penelitian tikus (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin jantan, berat badan tikus 170-250 gram, umur 3-4 bulan, pakan yang seragam, yaitu diet normokolesterol standart berupa pakan pelet dan minum secara ad libitum, dan kondisi sehat ditandai dengan nafsu makan baik dan perilaku normal.

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria Eksklusi adalah tikus yang mati selama penelitian, dan kelainan fisik.

c. *Drop Out*

Hewan coba dinyatakan *drop out* apabila memenuhi kriteria eksklusi dan diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi sehingga didapat jumlah tikus sesuai perhitungan besar obyek.

3.4.3 Kelompok Penelitian

Kelompok penelitian terdiri dari 3 kelompok, yaitu kelompok K (kelompok kontrol), kelompok C1 (diberi perlakuan injeksi 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-10} CFU/ml yang diencerkan di larutan salin), dan kelompok C2 (diberi perlakuan injeksi 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-12} CFU/ml yang diencerkan di larutan salin).

Besar obyek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor tikus setiap kelompok perlakuan. Adapun besar obyek didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005).

$$n \geq \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

- n : besar obyek tiap kelompok
Z : nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $Z = 1,96$
 σ : standar deviasi obyek
d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat di terima (σ) sama besar dengan (d) maka :

$$n \geq \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$
$$n \geq 3,84$$
$$n \geq (1,96^2)$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah obyek minimum yang harus digunakan adalah 4 obyek untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 12 ekor tikus sebagai obyek penelitian yang terbagi secara acak dalam 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor.

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

3.5.1 Bahan Penelitian

- Bahan pembuatan sediaan *C.albicans* terdiri dari *Sabouraud's Dextrose Agar* (SDA) dan NaCl fisiologis 0,85%.
- Bahan pembuatan model tikus terdiri atas tikus Wistar jantan, dan *C. albicans* (ATCC 10231).
- Pakan standar (Turbo, Indonesia) serta air minum (Aqua, Indonesia).
- Bahan untuk proses persiapan pembedahan yaitu kloroform.

- e. Bahan untuk *processing* jaringan terdiri atas formalin 10%, larutan PBS (BioWORLD, USA), sukrose 30%, *tissue tex*, aluminium foil, *poly l-lysin*.
- f. Bahan untuk pengecatan jaringan terdiri atas aquades, larutan *Picrosirius Red* (ScyTek, USA), larutan asam (asam asetat), etanol 100%, *xylane* (Merck, Jerman), *propylane glycol absolute* (Gama Scientific Biolab, Indonesia), *propylane glycol 85%* (gama Scientific Biolab, Indonesia), larutan *Sudan IV* (Sigma-Aldrich, USA), *Mayer's Hematoxylin* (Merck, Jerman), formalin 10%, *glycerin jelly* (Merck, Jerman), *Canada balsam* (Merck, Jerman).
- g. Minyak imersi (Olympus Corp., Jepang).
- h. Bahan tambahan sterilisasi terdiri atas, kapas steril dan spritus.

3.5.2 Alat Penelitian

- a. Alat-alat untuk pemeliharaan jamur *C. albicans* terdiri atas tabung, *autoclave* (Mommert, Jerman), rak tabung, *petridish* tidak bersekat dan *vibrator* atau vortex (Labinco, Belanda), *densichek*, pipet mikro (Hummepete, Jerman), inkubator (Daihan Labtech, India).
- b. Alat-alat untuk pemeliharaan hewan coba terdiri atas, kandang, wadah pakan, wadah minum dan timbangan neraca.
- c. Alat-alat yang membantu proses injeksi subkutan jamur terdiri atas jarum insulin 26G (Terumo, Jepang), *syringe* kecil kapasitas 1 ml (Terumo, Jepang) dan lampu senter.
- d. Alat-alat untuk bedah tikus terdiri atas papan *wax*, jarum, pinset anatomis, pinset *chirurgis*, gunting, *scalpel*, masker, sarung tangan dan wadah untuk membersihkan organ.
- e. Alat-alat untuk pembuatan sediaan histologi terdiri atas, mesin *cryostat* (Leica, Jerman), *object glass* (Citoplus, China) dan *cover glass*.

- f. Alat-alat untuk pengecatan jaringan terdiri dari tabung reaksi, pipet, rak pengecatan, timbangan digital (Snug-300, China), kompor listrik (Maspion, Indonesia), kertas saring.
- g. Alat-alat untuk pengamatan terdiri atas, mikroskop cahaya (Olympus, Jepang) dan optilab (OptiLab Advance, Indonesia).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan dan Pembagian Kelompok Hewan Coba

Penelitian ini akan dilakukan pada hewan coba tikus Wistar jantan dengan kriteria yang telah ditentukan. Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang selama 1 minggu sebelum perlakuan dan juga dilakukan pengukuran berat badan pada hewan coba. Hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok secara acak, yaitu:

- 1) Kelompok K (4 ekor) merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan.
- 2) Kelompok C1 (4 ekor) merupakan kelompok model tikus yang diinjeksikan 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-10} CFU/ml di larutan salin sebanyak 5 kali secara intravena pada vena ekor (vena lateral), yaitu pada hari ke-1, ke-4, ke-9, ke-16, dan ke-23. Frekuensi injeksi bakteri tersebut untuk membentuk infeksi kronis pada hewan coba.
- 3) Kelompok C2 (4 ekor) merupakan kelompok model tikus yang diinjeksikan 0,2 ml *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-12} CFU/ml di larutan salin sebanyak 5 kali secara intravena pada vena ekor (vena lateral), yaitu pada hari ke-1, ke-4, ke-9, ke-16, dan ke-23. Frekuensi injeksi bakteri tersebut untuk membentuk infeksi kronis pada hewan coba.

3.6.2 Persiapan Bahan Perlakuan

Persiapan bahan yang dilakukan adalah pembuatan suspensi *C. albicans* dengan cara sebagai berikut :

- 1) *C. albicans* diambil menggunakan ose.
- 2) Kemudian ditanam ke dalam *Sabouraud's Dextrose Agar*.
- 3) Dilakukan inkubasi selama 48 jam, dengan suhu 37°C.
- 4) Kemudian membuat suspensi *C. albicans* dengan cara dilarutkan dalam NaCl fisiologis 0,85 %, 20 ml. Suspensi fungi yang mengandung 10^{-10} CFU/ml dan larutan 10^{-12} CFU/ml (Sugiharti, 2011).

3.6.3. Pelaksanaan Penelitian

a. Asepsis

Sebelum penelitian dilaksanakan, dilakukan asepsis daerah kerja. Asepsis tersebut meliputi sterilisasi alat dan bahan yang digunakan dalam prosedur penelitian. Sterilisasi dilakukan untuk menghindari adanya kontaminasi mikroorganisme lain yang tidak diinginkan oleh peneliti dalam penelitian ini, sehingga tidak terjadi bias penelitian.

b. Induksi *C. albicans*

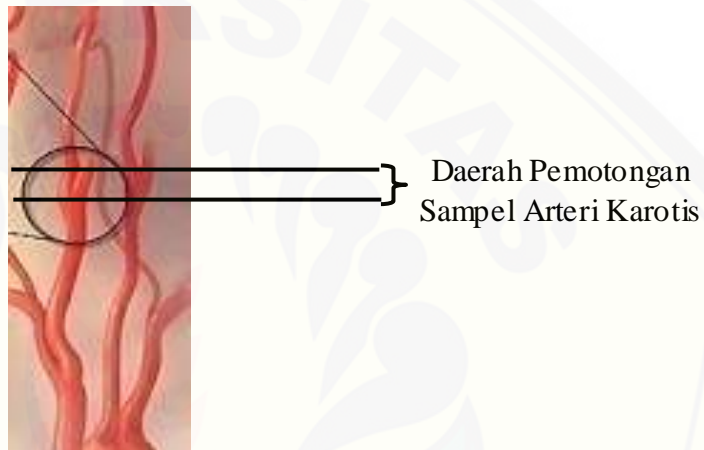
Induksi *C. albicans* dilakukan untuk menciptakan infeksi kronis pada mukosa rongga mulut berupa kandidiasis sistemik pada hewan coba. Sebanyak 0,2 ml suspensi *C. albicans* hidup dengan konsentrasi 10^{-10} CFU/ml (pada kelompok C1) dan konsentrasi 10^{-12} CFU/ml (pada kelompok C2) diinjeksikan secara intravena pada ekor bagian vena lateral.

Injeksi *C. albicans* diberikan sebanyak 5 kali secara intravena pada vena ekor (vena lateral), yaitu pada hari ke-1, ke-4, ke-9, ke-16, dan ke-23. Frekuensi injeksi bakteri tersebut untuk membentuk infeksi kronis pada hewan coba.

c. Pengambilan Jaringan Arteri Karotis

Setelah perlakuan selama 4 minggu, pada hari ke-29 semua sampel hewan coba dikorbankan untuk diambil arteri karotis komunis bagian bifurkasi yang bercabang

menjadi arteri karotis interna dan arteri karotis eksterna. Dilakukan anastesi inhalasi menggunakan kloroform, setelah hewan coba tidak sadar, dilakukan pembedahan leher hewan coba untuk pengambilan arteri karotis. Jaringan difiksasi dengan formalin 10% yang dicampur dengan larutan PBS dengan perbandingan 1:9. Jaringan yang telah difiksasi, dikemas dalam wadah berlabel yang selanjutnya dikirim ke Lab. Histologi FKG UGM untuk dilakukan pemotongan menggunakan teknik Potongan Beku (*Frozen Section*). Ketebalan potongan sebesar 10 μm .



Gambar 3.8 Arteri Karotis (Mardjono dan Sidharta, 2008)

d. Pemrosesan Jaringan

1) Pemotongan Jaringan

Arteri karotis difiksasi pada larutan formalin 10% yang dilarutkan PBS dengan perbandingan 1:9, dilakukan pemotongan jaringan menggunakan metode Potongan Beku (*Frozen Section*). Dalam metode *Frozen Section* tidak memerlukan proses dehidrasi, *clearing agent* dan pada beberapa kasus tanpa media *embedding* sehingga tidak mengakibatkan pelarutan lemak-lemak dalam jaringan. Oleh sebab itu, digunakan metode *Frozen Section* pada penelitian ini.

Teknis dari prosedur *Frozen Section* ini adalah *cryosection*, dimana menggunakan suatu alat *cryotom* yang merupakan mikrotom pada pesawat pembeku (*cryostat*). Tahapan *Frozen Section* sesuai protokol penggunaan Lab. Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada adalah sebagai berikut.

- a) Jaringan di-*trimming* setebal $\frac{1}{3}$ koronal jaringan arteri karotis, dimasukkan dalam botol yang berisi sukrose 30% dan disimpan ke dalam kulkas kurang lebih 3 hari.
- b) Jaringan diambil dari kulkas, disaring dengan kertas saring kemudian ditetesi dengan *tissue tex* dan didiamkan.
- c) Selama menunggu persiapan jaringan, disiapkan mikrotom *frozen section* (*Cryotom*) dan mesin *frozen section* (*Cryostat*). Langkah persiapan cryostat adalah sebagai berikut:
 - (1) Pastikan kabel terpasang pada arus listrik
 - (2) Tekan *On*
 - (3) Selanjutnya tekan tombol start
 - (4) Mesin otomatis menyesuaikan pada suhu mencapai -25°C
 - (5) Untuk mencapai -25°C membutuhkan waktu 2 jam
- d) Jaringan yang telah siap, di-*embedding* dengan *tissue tex* pada cetakan yang telah diberi *aluminium foil*.
- e) Dimasukkan dalam *frezer* -80°C dan tunggu sampai membeku kurang lebih 10 menit.
- f) Setelah membeku, ambil dan pasang pada *block holder* yang telah ditetesi *tissue tex*, tunggu membeku dan jaringan siap dipotong.
- g) *Block holder* dipasang pada tempatnya kemudian ketebalan potongan diset pada $10\ \mu\text{m}$.
- h) Setelah didapatkan potongan, potongan ditempelkan pada objek glass yang telah diolesi *poly l-lysin*.
- i) Jaringan diangin-anginkan dan siap diwarnai.
- j) Jika hasil potongan tidak segera diwarnai, disimpan dulu dalam kotak dan ditaruh pada suhu -80°C .

2) Pengecatan

Pengecatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi FKG UNEJ. Masing-masing sampel terdiri dari 2 preparat. Preparat tersebut dilakukan pengecatan menggunakan pewarnaan *Picrosirius Red* dan *Sudan IV*.

a) Pengecatan dengan *Picrosirius Red*

Pada proses melihat adanya histomorfologi arteri karotis dan mengukur ketebalan dinding arteri karotis penelitian ini digunakan pengecatan *Picrosirius Red*. Teknik pengecatan yang dilakukan adalah sesuai dengan standar protokol pengecatan *Picrosirius Red*.

Metode pengecatan *Picrosirius Red* sebagai berikut:

- (1) Preparat direndam dalam akuades selama 15 menit.
- (2) Preparat diwarnai dengan larutan *Picrosirius Red* pekat selama 60 menit (pastikan jaringan terendam seluruhnya).
- (3) Preparat dicelupkan sebanyak 2 kali ke dalam 2 larutan asam (asam asetat) yang berbeda.
- (4) Bilas dengan alkohol absolut dalam wadah.
- (5) Preparat direndam sebanyak 2 kali ke dalam alkohol absolut yang berbeda selama masing-masing tiga menit.
- (6) Bersihkan *object glass* di sekitar jaringan dengan *tissue*.
- (7) *Mounting* menggunakan cairan *canada balsem (entellan)* lalu ditutup dengan *cover glass*.

b) Pengecatan dengan *Sudan IV*

Prosedur pengecatan dengan menggunakan larutan *Sudan IV*, yaitu:

- (1) Keluarkan preparat jaringan dari lemari es, biarkan dalam suhu ruang selama 30-60 menit.
- (2) Tetesi preparat jaringan dengan formalin 10%, biarkan selama 5-10 menit, lalu keringkan selama 30-60 menit.
- (3) Bilas dengan akuades sebanyak 3 kali, keringkan.

- (4) Tetesi preparat jaringan dengan *propylane glycol* 100%, biarkan selama 2-5 menit lalu keringkan.
- (5) Lakukan pengecatan *Sudan IV* dengan meneteskan larutan *Sudan IV* secukupnya di atas preparat jaringan dan biarkan selama 8-10 menit dalam suhu 60⁰ C (dalam *autoclave*), setelah itu keluarkan dari *autoclave*.
- (6) Tetesi preparat jaringan dengan *propylane glycol* 85% selama 1 menit.
- (7) Bilas dengan akuades sebanyak 2 kali.
- (8) Lakukan pengecatan *Mayer's Hematoxilin* selama 30 detik.
- (9) Rendam preparat jaringan dalam wadah yang berisi air mengalir selama 3 menit.
- (10) Bilas preparat jaringan dengan akuades.
- (11) *Mounting* menggunakan cairan *canada balsem (entellan)* lalu ditutup dengan *cover glass*.

3.7 Pengamatan

3.7.1 Pengukuran Penebalan Dinding Arteri Karotis (Histomorfometrik)

Pengukuran penebalan dinding arteri karotis menggunakan *image raster* optilab dalam mikrometer (μm). Pengukuran dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x dan optilab. Ketebalan dinding arteri karotis yang menjorok ke lumen diukur dari lapisan intima sampai lapisan media [*Intima-Media Thickness (IMT)*], dipilih 3 lapang pandang pada setiap sampel, dan dari setiap lapang pandang dipilih daerah yang paling tebal. Pengamatan dilakukan oleh 3 pengamat. Selanjutnya dilakukan penghitungan nilai rata-rata ketebalan dinding arteri karotis sehingga didapatkan data kuantitatif.

3.7.2 Pengamatan Deposisi Lipid

Pengamatan gambaran histomorfologik deposisi lipid pada dinding arteri karotis dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan optilab. Pengamatan deposisi lipid dilakukan pada arteri dengan menentukan ada atau tidaknya gambaran deposisi lipid pada dinding arteri pada setiap spesimen. Arteri yang terdapat deposisi lipid ditandai oleh warna merah pada lapisan tunika intima preparat arteri karotis yang telah dilakukan pengecatan *Sudan IV*. Pengamatan dilakukan oleh 3 pengamat. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya deposisi lipid diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya deposisi lipid diberi skor 0 sehingga didapatkan data kualitatif.

3.7.3 Pengamatan Ateroma

Pengamatan gambaran histomorfologik ateroma pada dinding arteri karotis dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dan optilab. Arteri yang terdapat ateroma ditandai dengan adanya penonjolan dinding arteri bagian tunika intima ke arah lumen. Morfologi dinding arteri normal tidak terdapat ateroma. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya ateroma diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya ateroma diberi skor 0 sehingga didapatkan data kualitatif. Pengamatan dilakukan oleh 3 pengamat.

3.7.4 Pengamatan Stenosis

Pengamatan gambaran histomorfologik stenosis pada dinding arteri karotis dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dan optilab. Arteri yang terdapat stenosis terlihat adanya penyempitan pembuluh darah hingga hampir atau telah terjadi oklusi dinding arteri. Morfologi dinding arteri normal tidak terdapat stenosis. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya stenosis diberi skor 1, sedangkan jika tidak

ditemui adanya stenosis diberi skor 0 sehingga didapatkan data kualitatif. Pengamatan dilakukan oleh 3 pengamat.

3.7.5 Pengamatan Disintegrasi Kolagen Intimal

Pengamatan gambaran histomorfologik disintegrasi kolagen pada dinding arteri karotis dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan optilab. Arteri yang terdapat disintegrasi kolagen terlihat adanya kerusakan berupa diskontinuitas pada kolagen intimal yang tercat merah. Morfologi dinding arteri normal tidak terdapat disintegrasi kolagen. Pengamatan dilakukan oleh 3 pengamat. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya disintegrasi kolagen intimal diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya disintegrasi kolagen intimal diberi skor 0 sehingga didapatkan data kualitatif.

3.7.6 Pengamatan Denudasi Endotel

Pengamatan gambaran histomorfologik denudasi endotel pada dinding arteri karotis dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan optilab. Pengamatan morfologi denudasi endotel dilakukan pada arteri dengan menentukan ada atau tidaknya denudasi endotel pada lapisan tunika intima. Arteri yang terdapat denudasi endotel berupa kerusakan endotel yang tidak teratur dan atau hilangnya endotel pada lapisan tunika intima dari arteri karotis yang telah dicat *Sudan IV* dengan *cross stain Mayer's Hematoxilin*. Lapisan endotel normal ditunjukkan dengan tidak terdapat kerusakan endotel pada lapisan intima. Pengamatan dilakukan oleh 3 pengamat. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya denudasi endotel diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya lesi diberi skor 0 sehingga didapatkan data kualitatif.

3.7.7 Pengamatan *Fatty Streak*

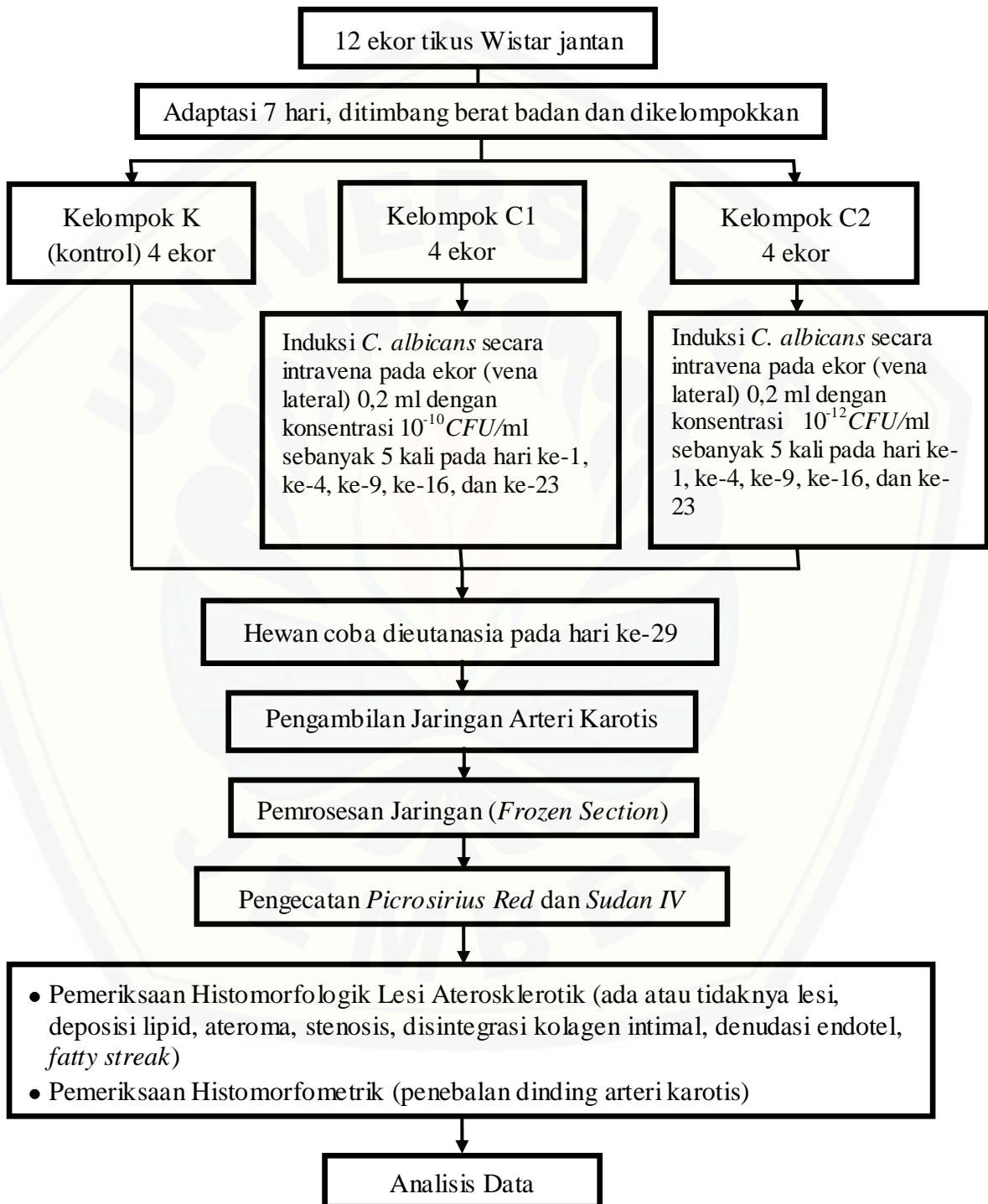
Pengamatan gambaran histomorfologik *fatty streak* pada dinding arteri karotis dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan optilab. Arteri yang terdapat *fatty streak* terlihat adanya lapisan *foam cell* yang berisi lemak yang terdapat dalam ateroma yang menonjol ke lumen, diamati pada preparat histologis arteri karotis yang telah dilakukan pengecatan dengan *Sudan IV*. Pengamatan dilakukan oleh 3 pengamat. Pada arteri yang diamati, jika ditemui adanya *fatty streak* diberi skor 1, sedangkan jika tidak ditemui adanya *fatty streak* diberi skor 0 sehingga didapatkan data kualitatif.

3.8 Analisis Data

Penelitian ini menghasilkan data kualitatif (deposisi lipid, ateroma, stenosis, disintegrasi kolagen intimal, denudasi endotel, dan *fatty streak*) dan data kuantitatif berupa hasil pengukuran ketebalan dinding arteri karotis.

Data kualitatif dianalisis dengan statistik non parametrik. Untuk memudahkan dalam menganalisis spesimen yang ditemui adanya lesi diberi skor 1, sedangkan spesimen yang tidak ditemui adanya lesi diberi skor 0. Adanya morfologi lesi aterosklerosis dihitung dan hasil dinyatakan sebagai persentase terbentuknya lesi arteri karotis. Data tersebut kemudian diuji non parametrik menggunakan Uji *Kruskal-Wallis*, dan jika hasil signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji data *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan morfologi arteri karotis antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Data kuantitatif diuji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, kemudian diuji homogenitas dengan uji *Levene* dan dianalisis dengan uji beda parametrik *Independent One Way ANOVA*.

3.9 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa *C. albicans* secara intravena berpotensi menginduksi aterosklerosis karotis. *Candida albicans* meningkatkan resiko pembentukan lesi aterosklerosis karotis yang ditandai dengan penebalan dinding arteri karotis, disintegrasi kolagen intimal, ateroma, stenosis, denudasi endotel, deposisi lipid dan *fatty streak*.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian selanjutnya yaitu perlu dilengkapi dengan mengukur tingkat keparahan infeksi *C. albicans*, dan perlu diuji konsentrasi *C. albicans* yang lebih kental (pekat) maupun lebih encer untuk mengetahui derajat inflamasi sistemik yang terjadi pada model tikus kandidiasis sistemik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2010. *Profil Kesehatan Propinsi Sulawesi Tengah*. Palu: Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Tengah.
- Agus S., dan Yanti R. 2010. *Penyakit Periodontal dan Penyakit Jantung Koroner (Aterosklerosis)*. Skripsi. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Boroch, Ann. 2009. *The Candida Cure: Yeast, Fungus and Your Health*. Los Angeles, USA: Quintessential Healing Publishing, Inc.
- Boston University Public Health. 2015. http://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/MPH-Modules/PH/PH709_Heart/PH7 [13 Maret 2015]
- Caroline, I. 2003. *Periodontitis sebagai Suatu Faktor Resiko Terjadinya Penyakit Jantung Koroner (Aterosklerosis)*. Medan : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara.
- Constantinides, P. 2004. *General Pathobiology*. New Jersey: Appleton and Lange.
- Daniel, W. 2005. *Biostatic a Foundation for Analysis in the Health Science 6th Edition*. Canada: John Wiley and Sons, Inc.
- Demmer, R.T., Desvarieux, M. 2006. Periodontal Infections and Cardiovascular Disease: The Heart of the Matter. *JADA*. Vol. 137: 14-20.
- Dietrich, T., Sharma, P., Walter, C., Wetson, P., Beck, J. 2013. The Epidemiological Evidence behind the Association between Periodontitis and Incident of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Journal of Clinical Periodontology*. Vol. 40: 70-84.
- Dorlan, W.A. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland Edisi 29*. Jakarta : EGC.
- Edward T.H. 2004. CRP As A Mediator of Disease. *Circulation System Journal*. Vol. 109:11-14.
- Fauziah, Dina Fitri. 2010. Pengaruh Konsumsi Madu terhadap Penurunan Risiko Penyakit Aterosklerotik Koroner. <https://islamadinafifa.wordpress.com/2010/12/30/107/> [12 April 2015]

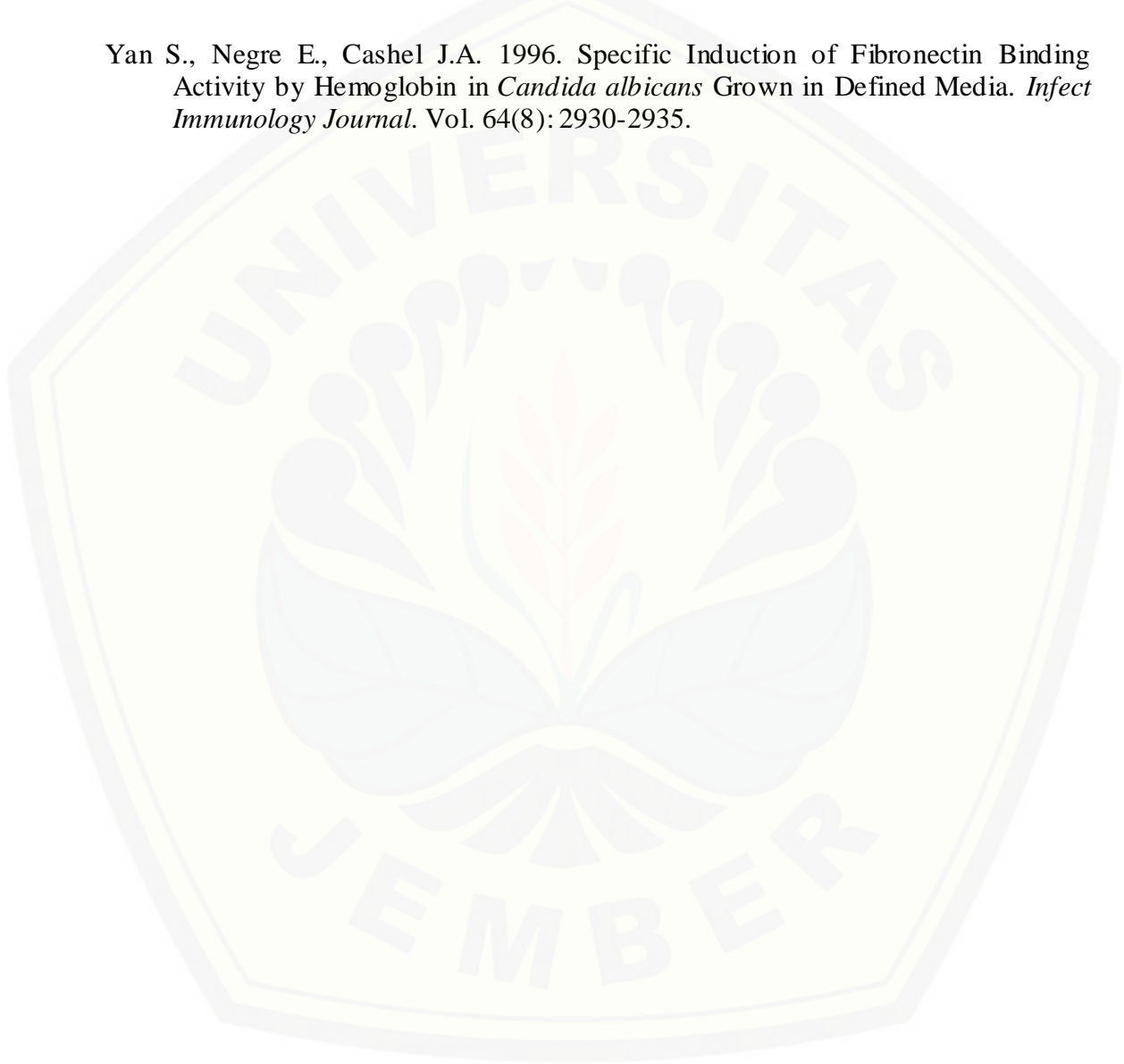
- Hansson, G.K. 2005. Mechanisms of Disease: Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease: Review Literature. *New England Journal of Medicine*. Vol. 352: 1685-1695.
- Histology World. Carotid Artery and Cardiovascular System. <http://www.histology-world.com/> [10 Mei 2015]
- Jawetz, Melnick., Adelberg. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Terjemahan oleh Edi Nugroho, RF Maulany dari Medical Microbiology. Jakarta: EGC.
- Junaidi, I. 2004. *Panduan Praktis Pencegahan dan Pengobatan Stroke*. Jakarta: PT. Bhuana Ilmu Populer.
- Mardjono., Sidharta. 2008. *Neurologi Klinis Dasar Cetakan ke-12*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Mayo. 2005. Arteriosclerosis/Artherosclerosis. <http://www.mayoclinic.com> [10 April 2015].
- Miura N.N., Harada T., Shinohara H. 2006. Lethal and Severe Coronary Arthritis in DBA/2 Mice Induced by Fungal Pathogen, CAWS, *Candida albicans* Water-Soluble Fraction. *Atherosclerosis Journal*. Vol. 186(2): 310-320.
- Muttaqin, Arif. 2008. *Buku Ajar Asuhan Keperawatan dengan Gangguan Sistem Persarafan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Naglik, J.R., Challacombe, S.J., Hube, B. 2003. *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteinases in Virulence and Pathogenesis. *Microbial Molecule Biology Review*. Vol. 67. No. 3: 400-428.
- Najjar, S.S., Scuteri, A., Lakatta, E.G. 2005. Arterial Aging: Is It an Immutable Cardiovascular Risk Factor. Dallas: *Hypertension Journal*. Vol.46: 454-462.
- NHLBI. 2006. Atherosclerosis. <http://www.nhlbi.nih.gov> [14 April 2105]
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan Cetakan Ketiga*. Jakarta: Rineka Pustaka.
- Nurgeldiyeva, Maya J., Hojakuliyev, Bayram G., Mhammedov, Meran B. 2014. Original Article: Correlation of Athrerogenesis with An Infection of *Candida albicans*. *International Journal of Clinical Exp Medical*. Vol. 7. No. 8: 2137-2143.

- Pendrak M.L., Roberts D.D. 2007. Hemoglobin is An Effective Inducer of Hyphal Differentiation in *Candida albicans*. *Medical Mycology Journal*. Vol. 45(1): 61-71.
- Price, S.A., Wilson, L.M. 2003. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6*. Jakarta: EGC.
- Ross, L.F., Mealey, B.L. 2004. *Atherosclerosis: Medicine, and Surgery*. Saint Louis: Elsevier Mosby.
- Ross R. 2004. *Atherosclerosis and Inflammatory Disease*. New England: *Med Journal*.
- Sarvtin, Mehdi Taheri., Parsa, Amir Farhang Zand., Kordbabacheh, Parivash., Hashemi, Jamal S., Mahmoudi, Mahmoud., Daie, Roshanak., Mosavi, S Amin Ayatollahi., Masoomi, Omid., Hamta, Amir. 2012. Comparison of Oral Candida Flora in Patients with Coronary Atherosclerosis and Healthy People. *Zahedan Journal of Research in Medical Science*. Vol. 16 (1): 40-43.
- Soenartyo, H. 2000. Denture Stomatitis-*Candida albicans*: Penyebab dan Pengelolaannya. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)*. Vol 33 (4): 148-151.
- Suryadipradja, R.M. 2002. Trombus Intra-Arterial pada Sindrom Koroner Akut, Peran Pengobatan dengan Antikoagulan. <http://www.interna.or.id> [14 April 2015]
- Suryohudoyo, P. 2002. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta : CV Sagung Seto.
- Tjampakasari, C.R. 2006. Karakteristik *C. albicans*. http://www.kalbefarma.com/files13_15_karakteristikBiologikCandidaAlbicans [14 April 2014]
- Wijayanti, Irma. 2012. *Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Jambu Mete (Anacardium occidentale, l.) sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan terhadap Pertumbuhan Candida albicans pada Resin Akrilik Heat Cured dengan Lama Perendaman 45 Menit*. Skripsi. FKG Universitas Jember.
- Whit T.C., Agabian N. 1995. *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteinases: Isoenzyme Pattern is Determined by Cell Type and Levels are Determined by Environmental Factors. *Bacteriology Journal*. Vol. 177(18): 5215-5221.

Wikipedia. *Candida albicans*. http://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus
[14 April 2015]

Xiaojing, L.I., Kolltveit, K.M., Tronstad L. 2000. Systemic Disease Caused by Oral Infection. *Clinical Microbial Review*. Vol. 13. No. 4: 547-558.

Yan S., Negre E., Cashel J.A. 1996. Specific Induction of Fibronectin Binding Activity by Hemoglobin in *Candida albicans* Grown in Defined Media. *Infect Immunology Journal*. Vol. 64(8): 2930-2935.



LAMPIRAN A. Perhitungan Jumlah Sampel

Besar sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor tikus setiap kelompok. Adapun besar sampel didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005) :

$$n \geq \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n : besar sample tiap kelompok

Z : nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $Z = 1,96$

σ : standar deviasi sampel

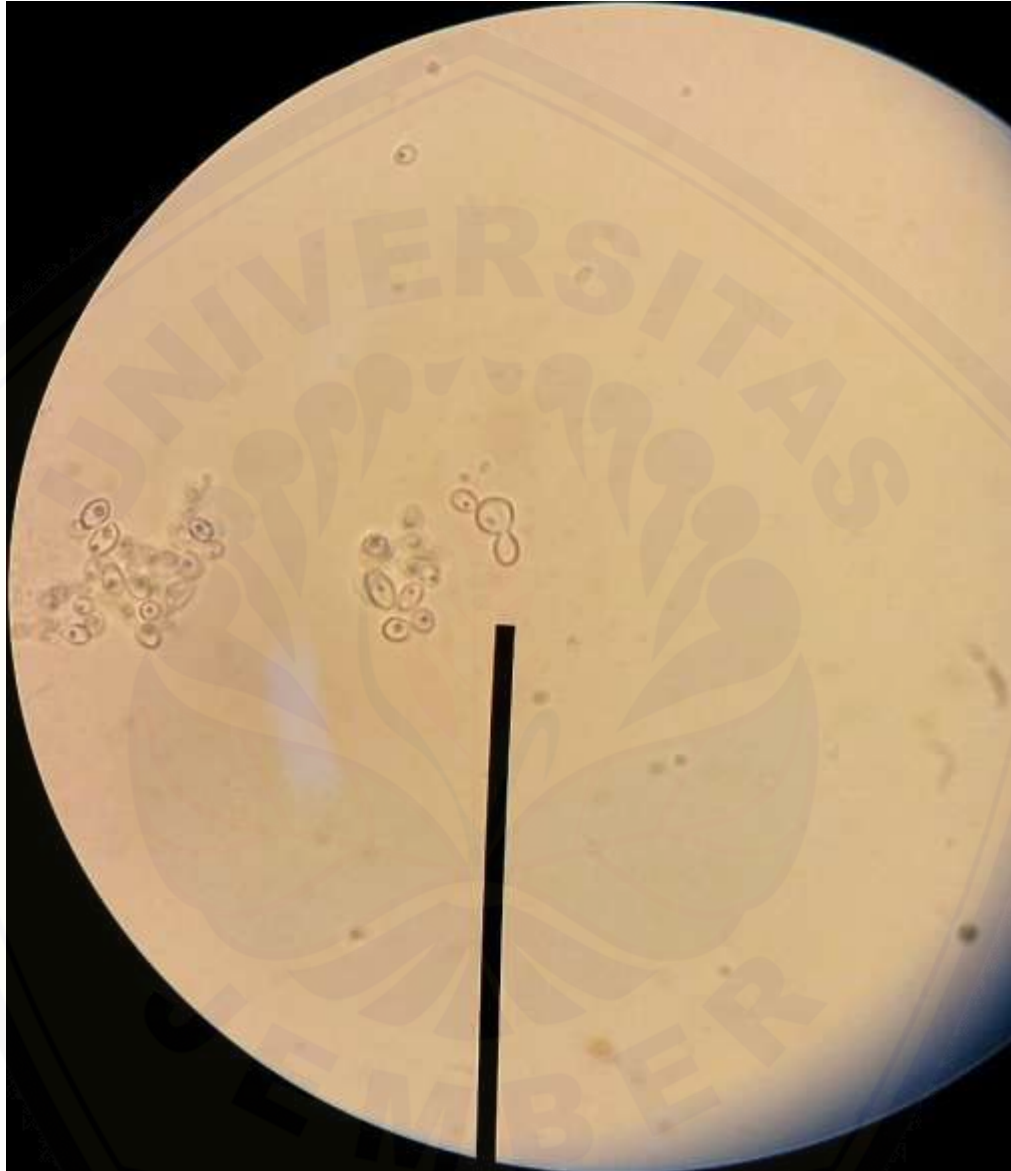
d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat di terima (σ) sama besar dengan (d) maka :

$$\begin{aligned} n &\geq \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2} \\ n &\geq 3,84 \\ n &\geq (1,96^2) \\ n &\geq 4 \end{aligned}$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 12 ekor tikus sebagai sampel yang terbagi ke dalam 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor.

LAMPIRAN B. Uji Identifikasi *Candida albicans*



Hasil uji identifikasi *C. albicans* secara mikroskopis menunjukkan sel bertunas panjang dan berkembang biak membuat sel yang baru. Hasil uji identifikasi ini menunjukkan jamur tidak terkontaminasi.

LAMPIRAN C. Alat dan Bahan Penelitian

C.1 Alat Penelitian

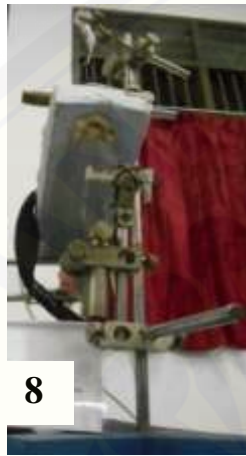
a. Alat Pemeliharaan Hewan Coba



Keterangan :

1. Kandang
2. Tempat Makan
3. Tempat Minum
4. Timbangan Neraca

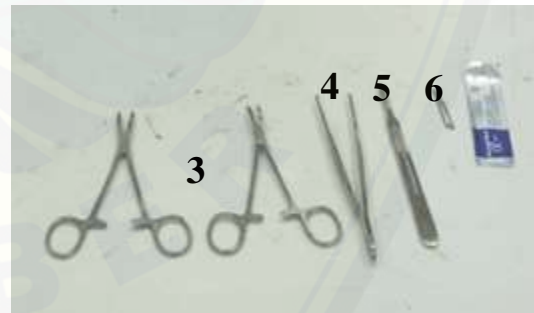
b. Alat Candida Hewan Coba



Keterangan :

1. Pisau Malam
2. Pinset
3. Gunting Jepit (kanan), Sonde Kecil (kiri)
4. Korek Api
5. Bunsen
6. *Head Lamp*
7. Syringe 1 cc
8. *Rat Dental Chair*

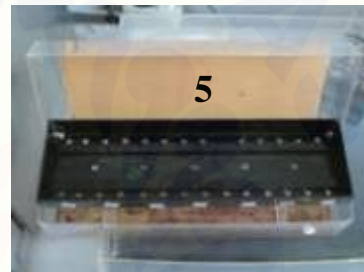
c. Alat Pembedahan Hewan Coba



Keterangan :

1. Papan Fiksasi
2. Jarum Pentul
3. Gunting Bedah
4. Pinset Anatomi
5. *Scalpel*
6. *Blade Scalpel*

d. Alat Pemrosesan Jaringan dan Pengecatan



Keterangan :

1. Mesin *Frozen section*
2. *Autoclave*
3. *Histological Basket*
4. *Freezer*
5. Rak Pengecatan

e. Alat untuk Pengamatan



Keterangan :

1. Optilab
2. Mikroskop Cahaya

C.2 Bahan Penelitian



Keterangan :

- | | |
|---|---|
| 6. Tikus Wistar Jantan (<i>Rattus novergicus</i>) | 1. Bahan Pengecatan <i>Picrosirius Red</i> |
| 7. Suspensi Jamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 (0,2 ml konsentrasi 10^{10} CFU/ml dan 10^{12} CFU/ml) | 2. Bahan Pengecatan <i>Sudan IV</i> (a. <i>Oil Red O</i> , b. <i>Propylene Glycol</i>) |
| 8. Akuabides | 3. Larutan PBS |
| 9. Ketamin | 4. Entellan |
| | 5. <i>Tissue Tek</i> |

D.1 Proses Candida



1.1 Fiksasi hewan coba ke *rat dental chair*



1.2 Pengambilan suspensi jamur



1.3 Injeksi suspensi *Candida albicans* secara intravena

D.2 Proses Pembedahan Hewan Coba



2.1 Anestesi inhalasi *cloroform*



2.2 Pembedahan hewan coba untuk pengambilan leher



2.3 Fiksasi pada formalin 10% + larutan PBS



2.4 Pengambilan darah untuk membuat hapusan darah



2.5 Persiapan *object glass* untuk membuat hapusan darah

D. 3 Proses *Frozen Section*

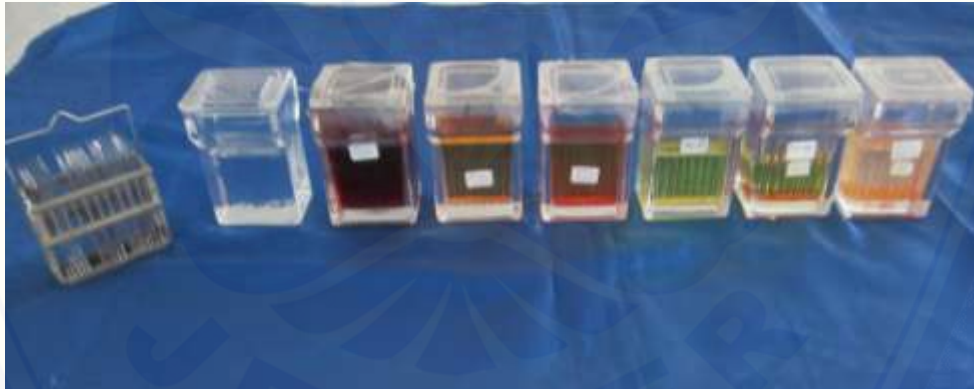


3.1 Alat untuk memotong jaringan dengan suhu dalam alat -20°C
Pemotongan jaringan dengan



3.2 Pemotongan jaringan dengan mesin *frozen section*

D.4 Proses Pengecatan Jaringan



4.1 Persiapan pengecatan spesimen dengan *Picrosirius Red*



4.2 Pembuatan larutan *Sudan IV*



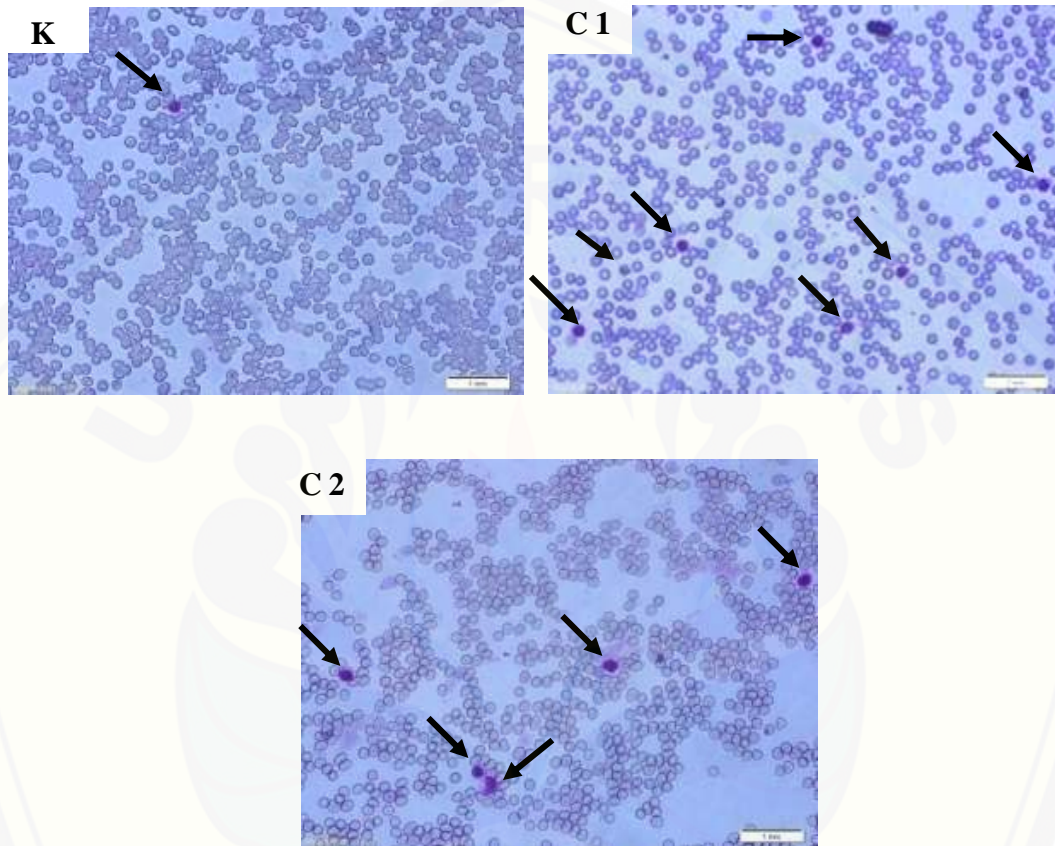
4.3 Proses penyaringan larutan *Sudan IV*



4.4 Proses pengecatan spesimen dengan *Sudan IV*

LAMPIRAN E. Data Hasil Penelitian

E.1 Foto Hapusan Darah Perifer Tikus



Gambar 1.1 Foto hapusan darah perifer tikus. Leukosit ditunjukkan dengan tanda panah hitam, pengecatan *Giemsa* (pembesaran 400X) Pengamatan hapusan darah perifer menunjukkan bahwa leukosit pada kelompok K (kontrol) lebih sedikit dibandingkan kelompok C 1 (*Candida* 1) dan kelompok C 2 (*Candida* 2).

E.2 Hasil Pengamatan Histometrik Lesi Aterosklerosis

Ketebalan Dinding Arteri Karotis (μm)

Kelompok Kontrol	Pengamat 1			Rata-Rata 1	Pengamat 2			Rata-Rata 2	Pengamat 3			Rata-Rata 3	Rata-Rata 1,2,3
K-1	35.5	31.4	41.2	36.0	36.1	30.2	34.2	33.5	30.4	28.7	29.8	29.6	33.1
K-2	24.9	32.9	36.3	31.4	21.6	34.2	38.4	31.4	24.8	37.1	40.5	34.1	32.3
K-3	41.8	38.2	18.9	33.0	51.2	35.7	19	35.3	40	34.9	22.6	32.5	33.6
K-4	26	30.6	22.1	26.2	30.6	39.5	22.2	30.8	30.3	30.9	23.2	28.1	28.4
Kelompok <i>Candida</i> 1													
C 1-1	72.1	52.3	69.4	64.6	70.7	50.8	65.8	62.4	72.2	54.4	69.4	65.3	64.1
C 1-2	41.7	32.1	73.8	49.2	45.2	33.4	74.4	51.0	54.9	30	83.3	56.1	52.1
C 1-3	187.1	80.2	147.9	138.4	187.9	82.3	148.6	139.6	189.3	80.1	150.1	139.8	139.3
C 1-4	71.7	57.5	80.5	69.9	69.1	56.4	96.4	74.0	70.3	56.1	91.5	72.6	72.2
Kelompok <i>Candida</i> 2													
C 2-1	32.7	96.1	40.1	56.3	30.5	93.7	39	54.4	38.7	93.5	35.9	56.0	55.6
C 2-2	32.1	32.9	32.2	32.4	28.6	30.7	32.3	30.5	30	25.7	35	30.2	31.1
C 2-3	50.8	71	63.6	61.8	53.6	69.8	63.6	62.3	53.6	72.6	65	63.7	62.6
C 2-4	102.4	81.4	127.9	103.9	98.2	85.7	135.7	106.5	96.3	84.3	133.6	104.7	105.1

E.3 Hasil Pengamatan Histomorfologik Lesi Aterosklerosis

a. Disintegrasi Kolagen Intimal

Kelompok		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Hasil
Kontrol	1a	1	1	0	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	0	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	0	1	1
	3b	1	1	0	1
	4a	1	1	1	1
	4b	0	1	1	1
CI 1	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1
CI 2	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1

b. Ateroma

Kelompok		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Hasil
Kontrol	1a	0	0	0	0
	1b	0	0	0	0
	2a	0	0	0	0
	2b	0	0	0	0
	3a	0	0	0	0
	3b	0	0	0	0
	4a	0	0	0	0
	4b	0	0	0	0
CI 1	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1
CI 2	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	0	0	0	0
	2b	0	0	0	0
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1

c. Stenosis

Kelompok		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Hasil
Kontrol	1a	0	0	0	0
	1b	0	0	0	0
	2a	0	0	0	0
	2b	0	0	0	0
	3a	0	0	0	0
	3b	0	0	0	0
	4a	0	0	0	0
	4b	0	0	0	0
CI 1	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1
CI 2	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	0	0	0	0
	2b	0	0	0	0
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1

d. Denudasi Endotel

Kelompok		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Hasil
Kontrol	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1
CI 1	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1
CI 2	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1

e. Deposisi Lipid

Kelompok		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Hasil
Kontrol	1a	0	0	0	0
	1b	0	0	0	0
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	0	1
	3b	1	1	0	1
	4a	1	0	1	1
	4b	1	1	1	1
CI 1	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1
CI 2	1a	1	1	1	1
	1b	1	1	1	1
	2a	1	1	1	1
	2b	1	1	1	1
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1

f. *Fatty Streak*

Kelompok		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Hasil
Kontrol	1a	0	0	0	0
	1b	0	0	0	0
	2a	0	0	0	0
	2b	0	0	0	0
	3a	0	0	0	0
	3b	0	0	0	0
	4a	0	0	0	0
	4b	0	0	0	0
CI 1	1a	0	0	0	0
	1b	0	0	0	0
	2a	0	0	0	0
	2b	0	0	0	0
	3a	1	1	1	1
	3b	1	1	1	1
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1
CI 2	1a	0	0	0	0
	1b	1	1	1	1
	2a	0	0	0	0
	2b	0	0	0	0
	3a	1	0	0	0
	3b	1	0	0	0
	4a	1	1	1	1
	4b	1	1	1	1

LAMPIRAN F. Hasil Uji Statistik

F.1 Hasil Uji Statistik Parameter Histometrik (Ketebalan Dinding Arteri Karotis)

a. Uji Normalitas (Kolmogorov-Smirnov Test)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	41.48370755
	Absolute	.288
Most Extreme Differences	Positive	.288
	Negative	-.193
Kolmogorov-Smirnov Z		.999
Asymp. Sig. (2-tailed)		.271

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

b. Uji Homogenitas (Levene's Test)

Test of Homogeneity of Variances

KETEBALAN DINDING

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.454	2	9	.077

c. Uji One Way ANOVA

Descriptives

KETEBALAN DINDING

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	4	31.830	5.6988	2.8494	41.007	59.143	42.6	55.0
Candida 1	4	81.914	27.2304	30.1152	11.010	202.690	65.5	196.2
Candida 2	4	63.578	21.2721	19.1360	29.701	151.499	57.7	145.9
Total	12	82.508	44.9388	12.9727	53.956	111.061	42.6	196.2

ANOVA

KETEBALAN DINDING

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6839.652	2	3419.826	2.002	.191
Within Groups	15374.777	9	1708.309		
Total	22214.429	11			

F.2 Hasil Uji Statistik Parameter Histomorfologik (*Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*)

a. Disintegrasi Kolagen Intimal

Uji Kruskal Wallis

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank
DISINTEGRASI KOLAGEN	Kontrol	8	12.50
	<i>Candida</i> 1	8	12.50
	<i>Candida</i> 2	8	12.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	DISINTEGRASI KOLAGEN
Chi-Square	.000
df	2
Asymp. Sig.	1.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

KELOMPOK PERLAKUAN

b. Ateroma

Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank
ATEROMA	Kontrol	8	5.50
	Candida 1	8	17.50
	Candida 2	8	14.50
	Total	24	

Test Statistics ^{a,b}	
	ATEROMA
Chi-Square	17.086
df	2
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

KELOMPOK PERLAKUAN

Uji Mann Whitney Kelompok Kontrol dengan Kelompok Candida 1

Ranks				
	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ATEROMA	Kontrol	8	4.50	36.00
	Candida 1	8	12.50	100.00
	Total	16		

Test Statistics^a

	ATEROMA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.873
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: KELOMPOK PERLAKUAN

b. Not corrected for ties.

Uji Mann Whitney Kelompok Kontrol dengan Kelompok Candida 2

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ATEROMA	Kontrol	8	5.50	44.00
	Candida 2	8	11.50	92.00
	Total	16		

Test Statistics^a

	ATEROMA
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	44.000
Z	-3.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.010 ^b

a. Grouping Variable: KELOMPOK PERLAKUAN

b. Not corrected for ties.

Uji Mann Whitney Kelompok Candida 1 dengan Kelompok Candida 2

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ATEROMA	Candida 1	8	9.50	76.00
	Candida 2	8	7.50	60.00
	Total	16		

Test Statistics^a

	ATEROMA
Mann-Whitney U	24.000
Wilcoxon W	60.000
Z	-1.464
Asymp. Sig. (2-tailed)	.143
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.442 ^b

a. Grouping Variable: KELOMPOK PERLAKUAN

b. Not corrected for ties.

c. Stenosis

Uji Kruskal Wallis

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank
STENOSIS	Kontrol	8	5.50
	Candida 1	8	17.50
	Candida 2	8	14.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	STENOSIS
Chi-Square	17.086
df	2
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

KELOMPOK PERLAKUAN

Uji Mann Whitney Kelompok Kontrol dengan Kelompok Candida 1

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
STENOSIS	Kontrol	8	4.50	36.00
	Candida 1	8	12.50	100.00
	Total	16		

Test Statistics^a

	STENOSIS
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.873
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: KELOMPOK PERLAKUAN

b. Not corrected for ties.

Uji Mann Whitney Kelompok Kontrol dengan Kelompok Candida 2

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
STENOSIS	Kontrol	8	5.50	44.00
	Candida 2	8	11.50	92.00
	Total	16		

Test Statistics^a

	STENOSIS
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	44.000
Z	-3.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.010 ^b

a. Grouping Variable: KELOMPOK PERLAKUAN

b. Not corrected for ties.

Uji Mann Whitney Kelompok Candida 1 dengan Kelompok Candida 2

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
STENOSIS	Candida 1	8	9.50	76.00
	Candida 2	8	7.50	60.00
	Total	16		

Test Statistics^a

	STENOSIS
Mann-Whitney U	24.000
Wilcoxon W	60.000
Z	-1.464
Asymp. Sig. (2-tailed)	.143
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.442 ^b

a. Grouping Variable: KELOMPOK PERLAKUAN

b. Not corrected for ties.

d. Denudasi Endotel

Uji Kruskal Wallis

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank
DENUKASI ENDOTEL	Kontrol	8	12.50
	<i>Candida 1</i>	8	12.50
	<i>Candida 2</i>	8	12.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	DENUKASI ENDOTEL
Chi-Square	.000
df	2
Asymp. Sig.	1.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

KELOMPOK PERLAKUAN

e. Deposisi Lipid

Uji Kruskal Wallis

Ranks

	KELOMPOK PERLAKUAN	N	Mean Rank
DEPOSISI LIPID	Kontrol	8	10.50
	<i>Candida 1</i>	8	13.50
	<i>Candida 2</i>	8	13.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	DEPOSISI LIPID
Chi-Square	4.182
df	2
Asymp. Sig.	.124

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

KELOMPOK PERLAKUAN

f. *Fatty Streak*

Uji Kruskal Wallis

Ranks

	KELOMPOK CANDIDA	N	Mean Rank
<i>FATTY STREAK</i>	Kontrol	8	9.00
	<i>Candida 1</i>	8	15.00
	<i>Candida 2</i>	8	13.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	<i>FATTY STREAK</i>
Chi-Square	5.025
df	2
Asymp. Sig.	.081

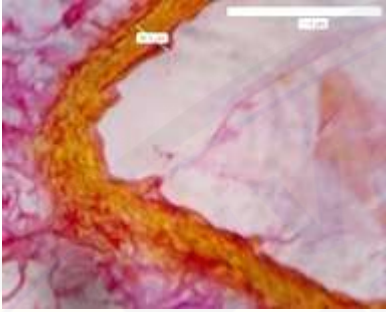
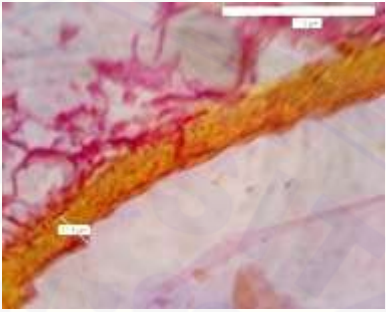
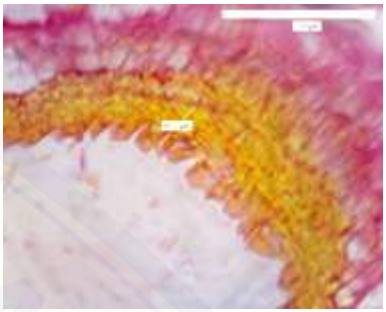
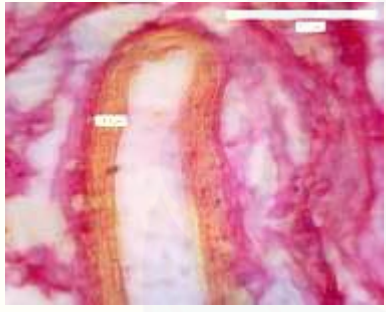
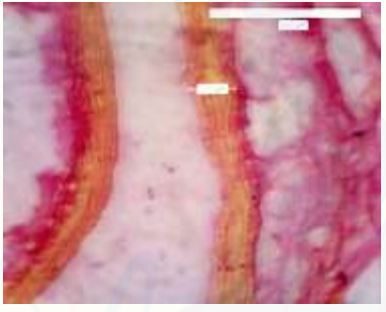
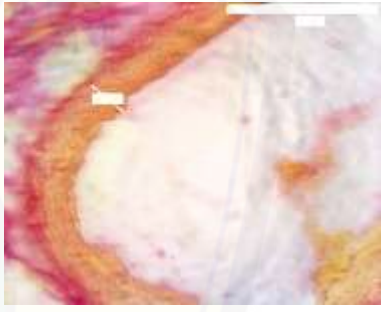
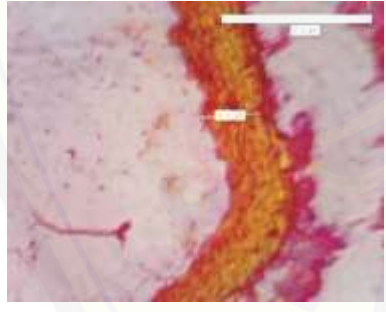
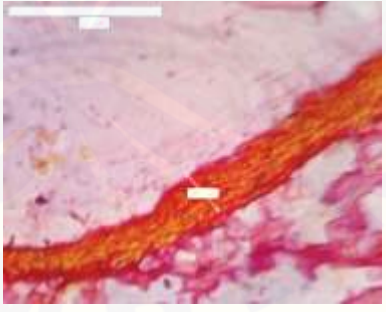
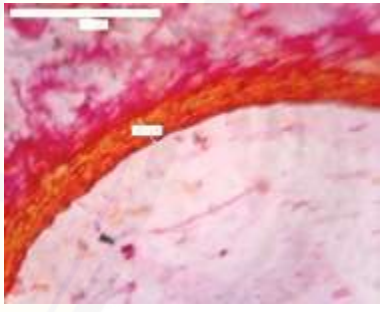
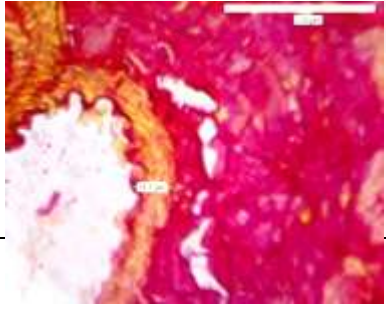
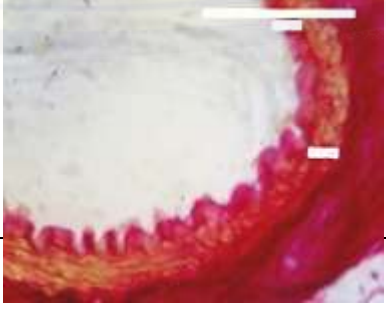
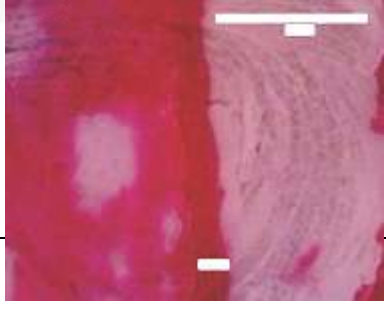
a. Kruskal Wallis Test

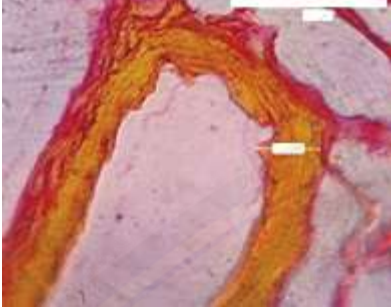
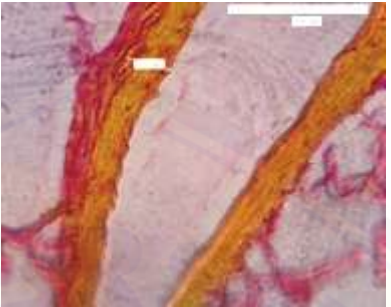


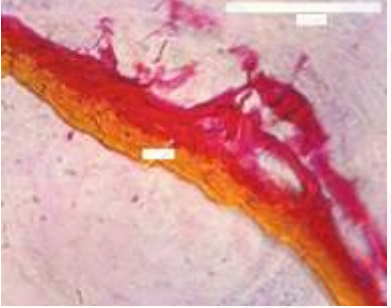
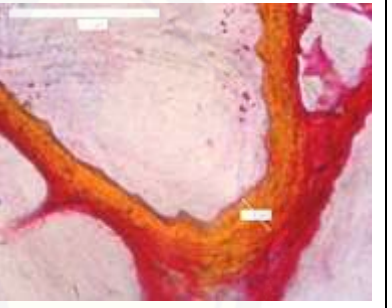
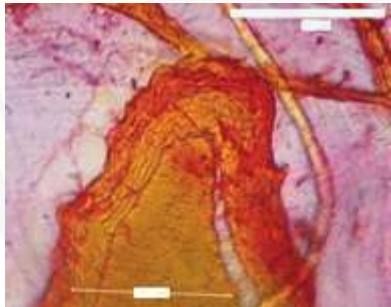
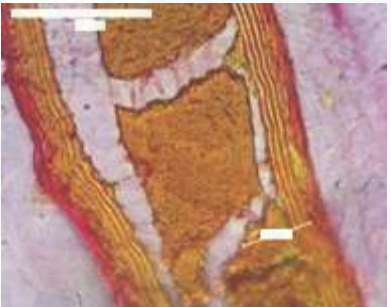
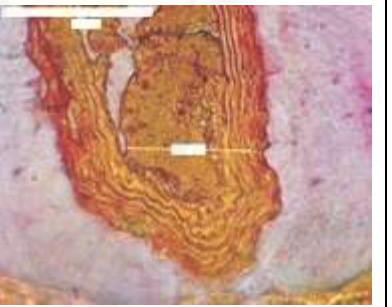
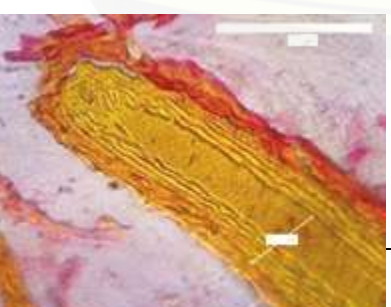
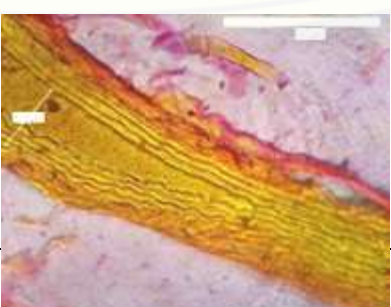
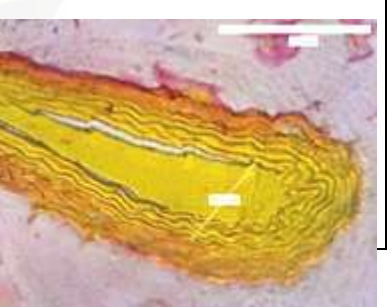
b. Grouping Variable: KELOMPOK

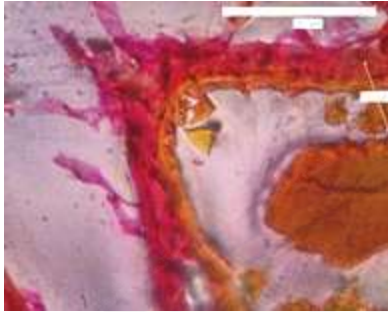
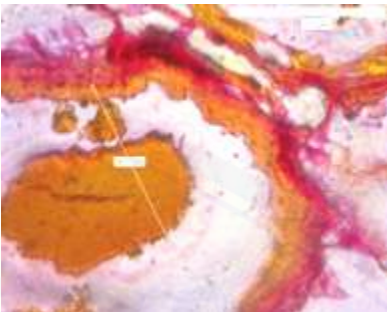
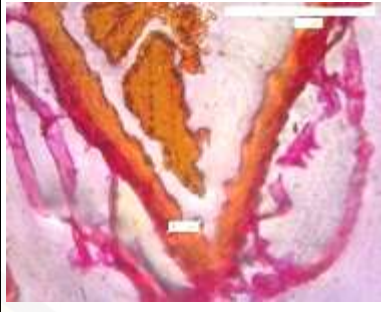
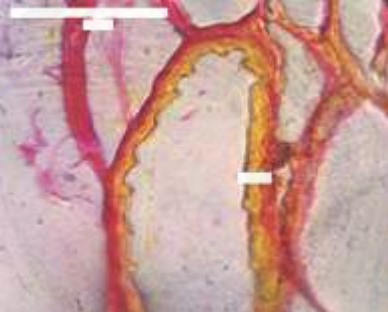
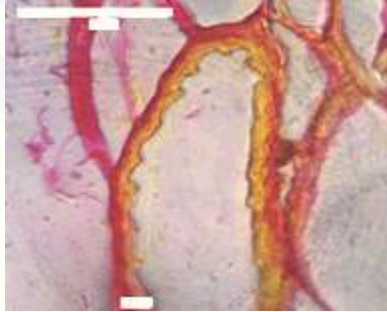
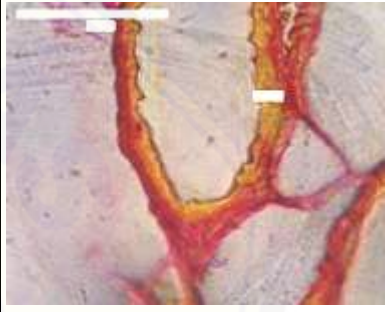
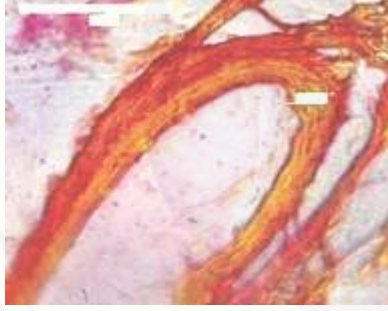
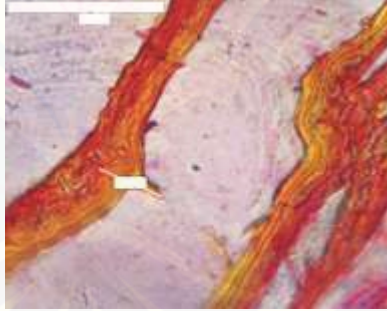
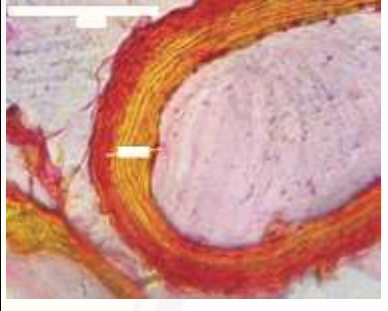
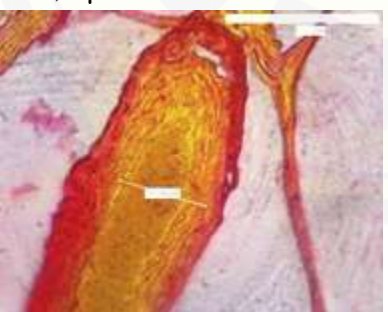
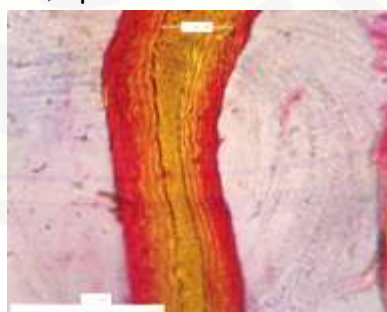
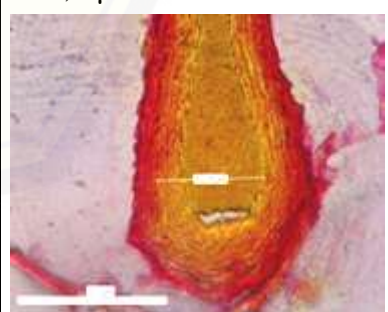
CANDIDA

LAMPIRAN G. Gambaran Histologi Lesi Aterosklerosis Karotis

G.1 Ketebalan Dinding Arteri Karotis

	LAPANG PANDANG 1	LAPANG PANDANG 2	LAPANG PANDANG 3
K-1	35,5 μm 	31,4 μm 	41,2 μm 
K-2	24,9 μm 	32,9 μm 	36,3 μm 
K-3	41,8 μm 	38,2 μm 	18,9 μm 
K-4	26,0 μm 	30,6 μm 	22,1 μm 

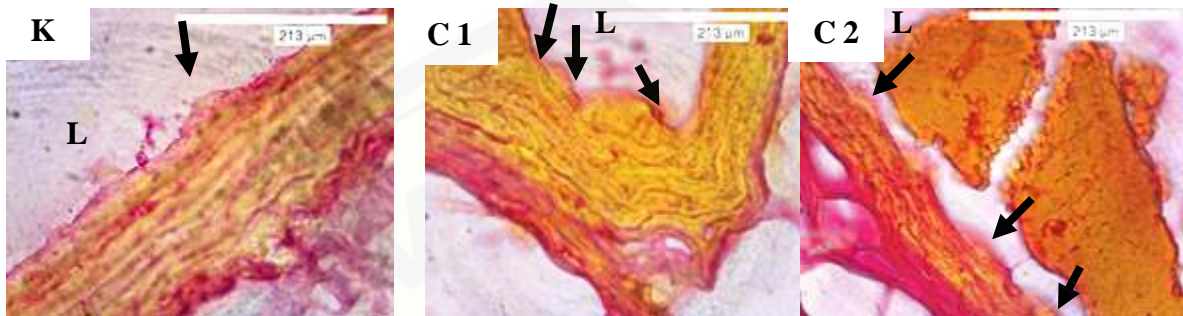
C 1-1	72,1 μm 	52,3 μm 	69,4 μm 
C 1-2	41,7 μm 	32,1 μm 	73,8 μm 
C 1-3	187,1 μm 	80,2 μm 	147,9 μm 
C 1-4	71,7 μm 	57,5 μm 	80,5 μm 

C 2-1	32,7 μm 	96,1 μm 	40,1 μm 
C 2-2	32,1 μm 	32,9 μm 	32,2 μm 
CI 2-3	50,8 μm 	71,0 μm 	63,6 μm 
C 2-4	102,4 μm 	81,4 μm 	127,9 μm 

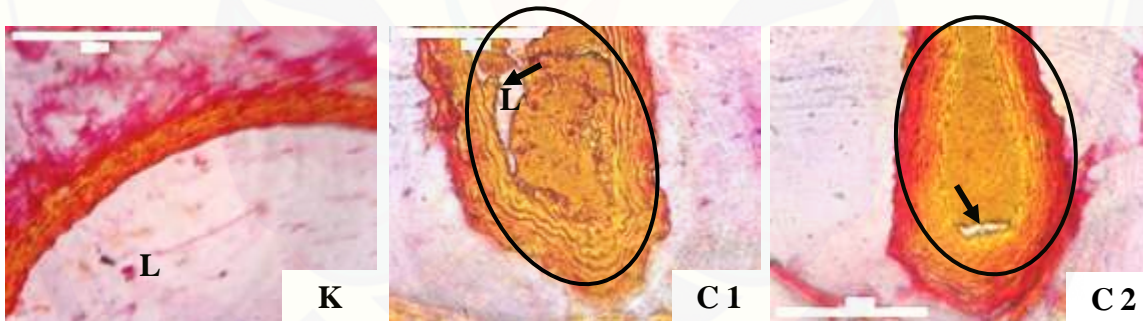
Gambar 1.1 Ketebalan dinding arteri karotis tikus. Ketebalan dinding arteri karotis, pengecatan *Picrosirius Red* (pembesaran 400X).

G.2 Gambaran Histomorfologik Lesi Aterosklerosis Karotis

a. Pengecatan *Picrosirius Red*

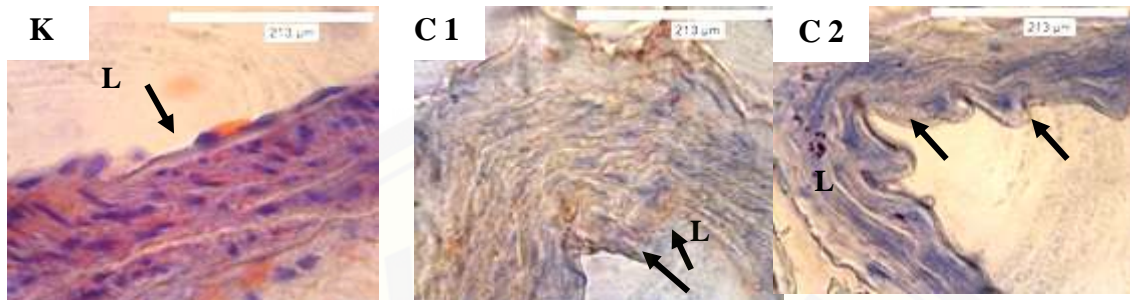


Gambar 2.1 Disintegrasi kolagen intimal pada arteri karotis tikus (tanda panah hitam) dengan pengecatan *Picrosirius Red* (pembesaran 1000x), lapisan kolagen tercat warna merah di dinding intima. Kelompok K (kontrol) ditemukan disintegrasi kolagen. Kelompok C1 (diinjeksi 0,2 ml *C. albicans* 10^{-10} CFU/ml) dan C 2 (0,2 ml *C. albicans* 10^{-12} CFU/ml) ditemukan lebih banyak disintegrasi kolagen ditandai dengan penipisan kolagen dan adanya diskontinuitas kolagen intimal.

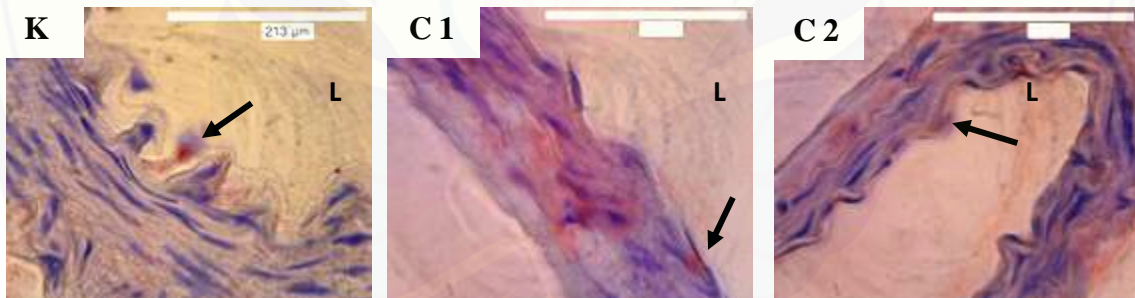


Gambar 2.2 Ateroma (tanda panah hitam) dan stenosis (dilingkari) pada arteri karotis tikus, pengecatan *Picrosirius Red* (pembesaran 400x). Kelompok K (kontrol), dinding arteri karotis tidak terdapat ateroma serta stenosis. Kelompok C1 (diinjeksi 0,2 ml *C. albicans* 10^{-10} CFU/ml) dan C 2 (0,2 ml *C. albicans* 10^{-12} CFU/ml) bentuk dinding intima arteri karotis tidak beraturan dan pada lumen terdapat ateroma atau dungkul dan stenosis.

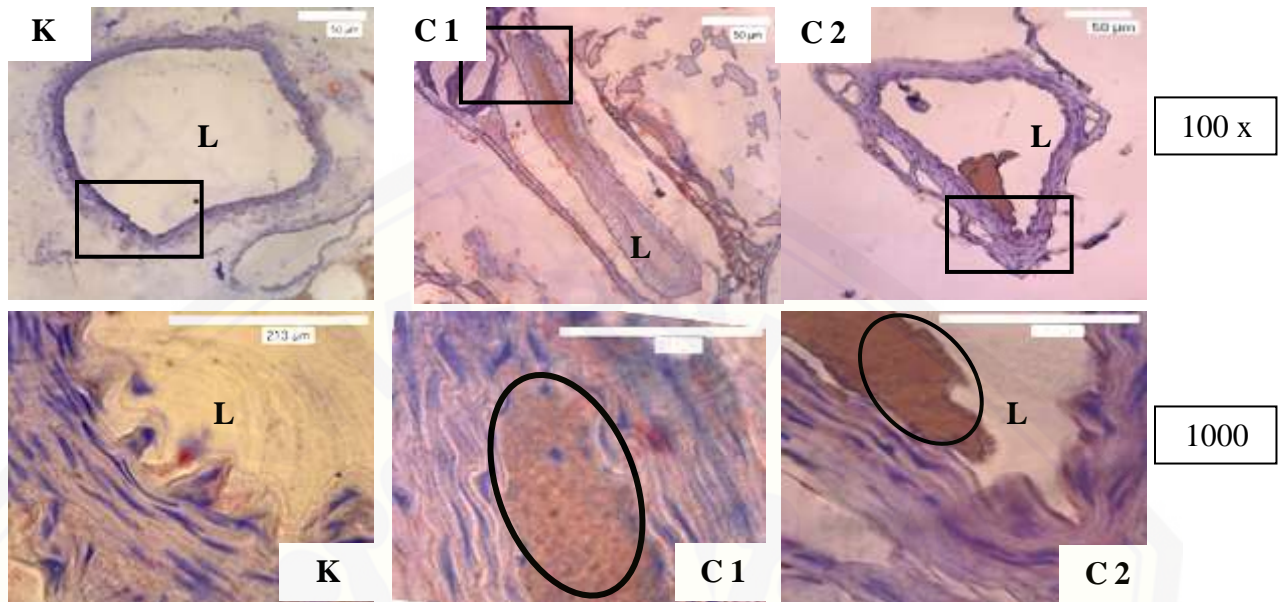
b. Pengecatan *Sudan IV*



Gambar 2.3 Denudasi endotel pada arteri karotis tikus (tanda panah hitam), pengecatan *Sudan IV* dengan *cross stain Hematoxilin Mayer's* (pembesaran 1000x), endotel tercatat warna biru di dinding intima. Pada kelompok K (kontrol) ditemukan adanya denudasi endotel, namun terdapat susunan endotel yang masih rapi pada dinding media dan intima. Kelompok C1 (diinjeksi 0,2 ml *C. albicans* 10^{-10} CFU/ml) dan C 2 (0,2 ml *C. albicans* 10^{-12} CFU/ml) ditemukan adanya denudasi endotel berupa diskontinuitas endotel yang letaknya berjauhan (jarang) dan hilangnya endotel.



Gambar 2.4 Deposisi lipid (warna merah, tanda panah hitam) pada arteri tikus, pengecatan *Sudan IV* (pembesaran 1000x). Pada kelompok K (kontrol), di lapisan subendotel terlihat adanya deposisi lipid. Pada kelompok C1 (diinjeksi 0,2 ml *C. albicans* 10^{-10} CFU/ml) dan C 2 (0,2 ml *C. albicans* 10^{-12} CFU/ml) menunjukkan deposisi lipid ditandai dengan warna merah pada lapisan subendotel.



Gambar 2.5 *Fatty streak* (dilingkari) pada arteri tikus, pengecatan *Sudan IV* (pembesaran 100x dan 1000x). Pada kelompok K (kontrol), tidak tampak adanya *fatty streak* pada dinding arteri. Pada kelompok C1 (diinjeksi 0,2 ml *C. albicans* 10^{-10} CFU/ml) dan C 2 (0,2 ml *C. albicans* 10^{-12} CFU/ml) menunjukkan adanya *fatty streak*, yaitu bentukan sel lemak (bewarna kuning-kemerahan) yang menempel pada dinding arteri.

Lampiran H. Tabel Berat Badan Tikus

Kelompok	Tikus	Berat Badan (gr)			
		Mg. 1	Mg. 2	Mg. 3	Mg. 4
Kontrol	1	150	190	200	224
	2	132	157	173	193
	3	143	164	178	197
	4	156	175	189	203
<i>Candida 1</i>	1	143	164	174	176
	2	127	157	178	199
	3	123	133	144	153
	4	135	176	185	194
<i>Candida 2</i>	1	121	145	160	156
	2	163	195	209	203
	3	113	154	163	168
	4	136	123	141	145

LAMPIRAN I. Sertifikat *Ethical Clearance* Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877
Jember 68121 Email : ik_uncj@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVAL
Nomor : 765 /1125.1.11/KE/2015

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember, dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :


IDENTIFIKASI LESI ATEROSKLEROSIS KAROTIS PADA TIKUS WISTAR (*Rattus Norvegicus*) YANG DI INDUKSI *Candida Albican* INTRA VENA

Nama Peneliti Utama : Amalia Rahmaniar I. (Nim :121610101018)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Name of institution


Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 2015



dr. Kim Riyanti, Sp.PK

LAMPIRAN J. Surat Ijin Penelitian

 KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kallimantan No. 37 Jember ☎ (0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 1467 /UN25.8/TL/2015
Perihal : Ijin Penelitian


Kepada Yth.
Ka. Bag. BIOMEDIK FKG Universitas Jember
c.q PJMK. Fisiologi FKG Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan Skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin Penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama : Amalia Rahmaniar Indrati
2. NIM : 121610101018
3. Tahun Akademik : 2014/2015
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Mastrip No. 11 Jember
6. Judul Penelitian : Identifikasi Lesi Aterosklerosis Karotis Pada Model Tikus wistar Jantan Yang Diinduksi Candida Albicans Intravena
7. Lokasi Penelitian : Lab Fisiologi FKG Universitas Jember
8. Data/Alat yg dipinjam : -
9. Waktu : April 2015 s/d Selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Identifikasi Lesi Aterosklerosis Karotis Pada Model Tikus wistar Jantan Yang Diinduksi Candida Albicans Intravena
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Happy Harmono, M.Kes
2. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 15 MAY 2015
an. Dekan
Pembantu Dekan I


drg. R. Rahardyan Parnaadij, M.Kes, Sp.Prost
NIP. 196901121996011001

Tembusan Kepada Yth.
- PJMK Fisiologi FKG Universitas Jember



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎103311333536, Fax. 331991

Nomor : 4568 /UN25.8/TL/2015
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Direktur RSGM Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk membejikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama : Amalia Rahmaniar Indrati
2. NIM : 121610101018
3. Tahun Akademik : 2015/2016
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Mastrip No.11 Jember
6. Judul Penelitian : Identifikasi Lesi Ateroklerosis Karotis Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Candida Albicans
7. Lokasi Penelitian : Lab. Bioscience RSGM Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : Frezer (untuk penyimpanan jaringan)
9. Waktu : Desember 2015 s/d Selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Identifikasi Lesi Ateroklerosis Karotis Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Candida Albicans
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Happy Harmono, M.Kes
2. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 04 DEC 2015
an. Dekan
Pembantu Dekan I



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331)333536, Faks. 331991

Nomor : ~~9549~~UN25.8/TL/2015
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Ka. Bag. BIOMEDIK FKG Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan Skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama : Amalia Rahmaniar Indrati
2. NIM : 121610101018
3. Tahun Akademik : 2015/2016
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Mastrip No.11 Jember
6. Judul Penelitian : Identifikasi Lesi Ateroklerosis Karotis Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Candida Albicans
7. Lokasi Penelitian : Lab. Mikrobiologi FKG Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : -
9. Waktu : Oktober 2015 s/d Selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Identifikasi Lesi Ateroklerosis Karotis Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Candida Albicans
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Happy Harmono, M.Kes
2. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasamu yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 04 DEC 2015
an. Dekan
Pembantu Dekan I



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎10331)333536, Fax. 331991

Nomor : 4590UN25.8/TL/2015
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Ka. Bag.BIOMEDIK FKG Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan Skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama : Amalia Rahmaniar Indrati
2. NIM : 121610101018
3. Tahun Akademik : 2015/2016
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Mastrip No.11 Jember
6. Judul Penelitian : Identifikasi Lesi Ateroklerosis Karotis Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Candida Albicans
7. Lokasi Penelitian : Lab. Histologi FKG Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : -
9. Waktu : Oktober 2015 s/d Selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Identifikasi Lesi Ateroklerosis Karotis Pada Tikus Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Candida Albicans
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Happy Harmono, M.Kes
2. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 04 DEC 2015

an, Dekan
Berkas Dekan I



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

LAMPIRAN K. Surat Uji Identifikasi Jamur *Candida albicans*



LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN
No.086/MIKRO/SKET/2015

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : AMALIA RAHMANIAR INDRATI
Nim : 121610101018
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Identifikasi Bakteri (uji *germ tube*)

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Candida albicans*; hasil uji identifikasi dengan menggunakan uji *germ tube* dan diamati mikroskopis menunjukkan positif *Candida albicans*.

Jember, 7 Desember 2015,

Mengetahui,

Ketua Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

(Prof.DR.drg. I. D. A. Ratna Dewanti, M.Si)
NIP. 196705021997022001

(drg. Pujiana Endah Lestari, M. Kes)
NIP. 197608092005012002

AMPIRAN L. Surat Keterangan Spesies Hewan Coba

WISTAR FARM

MEYEDIKAKAN : TIKUS PUTIH JENIS MENCIT , JENIS RATTUS NOVERGICUS / GALUR
WISTAR. UNTUK PRAKTEK LABORATORIUM DAN MAKANAN REPTIL SEGALA UKURAN
HUBUNGI Bpk.PURNOMO Tlp . 08579133375
ALAMAT : SUMBER SEKAR RT 02. RW 03 KECAMATAN DAU KABUPATEN MALANG
JAWA TIMUR

KETERANGAN

YANG BERTANDA TANGAN DI BAWAH INI :

NAMA PETERNAK : PURNOMO

ALAMAT : SUMBER SEKAR RT.02. RW 03 KECAMATAN DAU. KAB. MALANG

MEMERANGKAN DENGAN SEBENAR BENARNYA BAHWA , TELAH MENJUAL TIKUS PUTIH.

JENIS / SPESIES : WISTAR / Rattus Novergius

UMUR : 3 - 4 BULAN

BERAT : 170 - 250 gr

JENIS KELAMIN : JANTAN

STATUS KESEHATAN : SEHAT

DEMIKIANLAH KETERANGAN DARI SAYA SELAKU PETERNAK DAN SEBAGAI PENJUAL.

MALANG, _____

HORMAT SAYA



(PURNOMO)