

PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI PADA *CANDIDA ALBICANS*

Vivi Keumala Mutiawati

Abstrak. *Candida albicans* menyebabkan sejumlah infeksi seperti kandidiasis mukosa, kandidiasis diseminata dan infeksi oportunistik. *Candida albicans* adalah monomorphic yeast dan yeast like organisme, tumbuh dengan baik pada suhu 25-30°C dan juga 35-37°C. Infeksi yang disebabkan kandida dapat berupa akut, subakut atau kronis pada seluruh tubuh manusia. *Candida albicans* dapat diisolasi tumbuh pada media agar dalam waktu tiga hari dengan koloni berbentuk seperti pasta krim lembut. *Candida albicans* mempunyai kemampuan untuk membentuk tabung benih/germ tubes dalam serum, atau spora besar berdinding tebal yang dinamakan klamidospora. Bahan klinis yang dipakai untuk pemeriksaan dapat berupa kerokan kulit atau kuku, sputum, sekret bronkus, urin, tinja, usap mulut, sekret telinga, sekret vagina, darah, cairan tubuh lain atau jaringan. Bahan klinis yang akan diperiksa harus dengan cara steril dan ditempatkan dalam wadah steril. Diagnosis laboratorium mikrobiologi dapat dilakukan melalui pemeriksaan langsung, kultur, serologi dan biologi molekuler. (JKS 2016; 1: 53-63)

Kata Kunci : Laboratorium, *candida albicans*, kandidiasis

Abstract. *Fungal infection known as mycosis cause of candidiasis, particularly those caused by Candida albicans. These organism caused a number of infections vary from mucosal candidiasis to disseminated candidiasis, and was a fungal infection that caused the highest incidence of opportunistic infections. Candida albicans is monomorphic yeast and yeast like organism, which grow wll at temperatures 25-30°C and also can grow at 35-37°C. Candida albicans can be isolated on agar media within there days, with a colony shaped like smooth creamy paste, and be recognized with the abilty to form germ tube in serum or the formation of large thick-walled spores called chlamydospore. Clinical sample that would be used to form the examination ware skin or nail scrappings, sputum, bronchial secretions, urine, faces, mucosal swap of ears, mounth or vagina, and also blood, other body fluids or tissue. Clinical material must be collected and arraged with sterile manner and placed in a sterile containers. Labotory diagnosis can be made through direst examination, culture, serological anda molecular biology. The diagnosis of deep candidal lesions should be done with histological axamination. (JKS 2016; 1: 53-63)*

Keywords : Labotory, *Candida albicans*, candidiasis

Pendahuluan

Infeksi jamur dikenal sebagai mikosis semakin dikenal sebagai penyebab morbiditas dan mortalitas pada pasien rawat inap di rumah sakit terutama pasien imunokompromais (seperti *Human Immunodeficiency Virus/HIV*). Penyakit lain dapat mendorong individu terinfeksi jamur yang umumnya terpapar dari sumber lingkungan dan aktivasi flora jamur endogen akibat penyakit yang mendasari ataupun intervensi diagnostik dan terapi (misalnya pemberian antibiotik).¹ *Candida albicans/C. albicans* merupakan bagian

dari mikroba flora normal yang beradaptasi dengan baik untuk hidup pada manusia, terutama pada saluran cerna, urogenital, dan kulit. *Candida albicans* penyebab kandidiasis yang merupakan infeksi jamur dengan insiden tertinggi disebabkan oleh infeksi oportunistik. Organisma ini juga menyebabkan sejumlah infeksi dari mulai *mucosal candidiasis* hingga *life-threatening disseminated candidiasis*.²⁻⁶

Candida albicans

Jamur Kandida telah dikenal dan dipelajari sejak abad ke-18 yang menyebabkan penyakit yang dihubungkan dengan *higiene* yang buruk. Nama Kandida diperkenalkan pada *Third International*

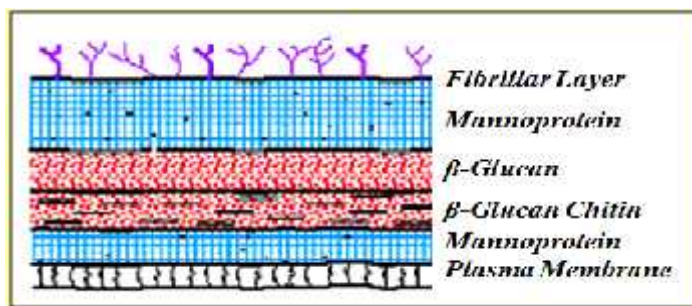
Vivi Keumala Mutiawati adalah Dosen Bagian Laboratorium Ilmu Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala Banda Aceh

Microbiology Congress di New York pada tahun 1938, dan dibakukan pada *Eight Botanical Congress* di Paris pada tahun 1954. *Candida albicans* penyebab Kandidiasis terdapat di seluruh dunia dengan sedikit perbedaan variasi penyakit pada setiap area. Kandidiasis interdigitalis lebih sering terdapat di daerah tropis sedangkan kandidiasis kuku pada iklim dingin. Penyakit ini dapat mengenai semua umur terutama bayi dan orang tua.⁵⁻⁷ Infeksi yang disebabkan Kandida dapat berupa akut, subakut atau kronis pada seluruh tubuh manusia. *Candida albicans* adalah *monomorphic yeast* dan *yeast like organism* yang tumbuh baik pada suhu 25-30°C dan 35-37°C.³⁻⁸

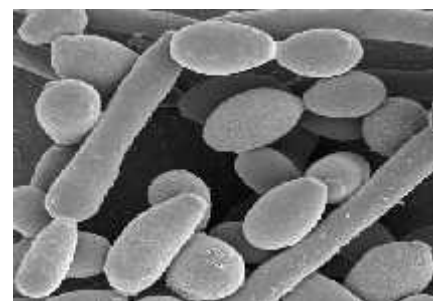
Struktur dan Pertumbuhan *Candida albicans*

Candida albicans yaitu organisme yang memiliki dua wujud dan bentuk secara simultan/*dimorphic organism*. Pertama adalah *yeast-like state* (non-invasif dan *sugar fermenting organism*). Kedua adalah *fungus form* memproduksi *root-like*

structure/struktur seperti akar yang sangat panjang/*rhizoids* dan dapat memasuki mukosa (invasif).⁴⁻⁵ Dinding sel Kandida dan juga *C. albicans* bersifat dinamis dengan struktur berlapis, terdiri dari beberapa jenis karbohidrat berbeda (80-90%): (i) *Mannan (polymers of mannose)* berpasangan dengan protein membentuk glikoprotein (mannoprotein); (ii) α -glucans yang bercabang menjadi polimer glukosa yang mengandung α -1,3 dan α -1,6 yang saling berkaitan, dan (iii) *chitin*, yaitu homopolimer *N-acetyl-D-glucosamine* (Glc-NAc) yang mengandung ikatan α -1,4. Unsur pokok yang lain adalah protein (6-25%) dan lemak (1-7%). *Yeast cells* dan *germ tubes* memiliki komposisi dinding sel yang serupa, meskipun jumlah α -glucans, *chitin*, dan *mannan* relatif bervariasi karena faktor morfologinya. Jumlah *glucans* jauh lebih banyak dibanding *mannan* pada *C. albicans* yang secara imunologis memiliki keaktifan yang rendah. Struktur dinding *C. albicans* secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini.⁴⁻⁵



(1)



(2)

Gambar 1. (1) Struktur dinding *C. Albicans* (2) Bentuk mikroskopis *C. albicans*.^{8, 15}

Jamur *Candida* tumbuh dengan cepat pada suhu 25-37°C pada media perbenihan sederhana sebagai sel oval dengan pembentukan tunas untuk memperbanyak diri, dan spora jamur disebut blastospora atau sel ragi/sel khamir. Morfologi mikroskopis *C. albicans* memperlihatkan *pseudohyphae* dengan *cluster* di sekitar blastokonidia bulat bersepta panjang berukuran 3-7x3-14 μm . Jamur membentuk hifa semu/pseudohifa yang sebenarnya adalah rangkaian blastospora

yang bercabang, juga dapat membentuk hifa sejati.³⁻⁷ Pseudohifa dapat dilihat dengan media perbenihan khusus. *Candida albicans* dapat dikenali dengan kemampuan untuk membentuk tabung benih/*germ tubes* dalam serum atau dengan terbentuknya spora besar berdinding tebal yang dinamakan *chlamydospore*. Formasi *chlamydospore* baru terlihat tumbuh pada suhu 30-37°C, yang memberi reaksi positif pada pemeriksaan *germ tube*. Identifikasi

akhir semua spesies jamur memerlukan uji biokimiawi.^{1,3-8}

Kandidiasis

Kandidiasis merupakan infeksi jamur sistemik yang paling sering dijumpai yang terjadi bila *C. albicans* masuk ke dalam aliran darah terutama ketika ketahanan fagositik host menurun.⁸⁻⁹ Respons imun *cell-mediated* terutama sel CD4 penting dalam mengendalikan kandidiasis (seperti pada kandidiasis), seringkali muncul beberapa bulan sebelum munculnya infeksi oportunistik yang lebih berat.⁸⁻⁹ Kandidiasis mukokutan pada orang dengan HIV-AIDS/ODHA merupakan salah satu indikator progresivitas HIV dapat muncul dalam tiga bentuk, yaitu kandidiasis vulvovagina, orofaring, dan esofagus (belum digolongkan infeksi oportunistik kecuali jika sudah mengenai esofagus).⁹⁻¹⁰ Strain kandida yang menginfeksi ODHA tidak berbeda dengan pasien imunokompromais lainnya (tersering adalah *C. albicans*). Strain lain yang pernah dilaporkan adalah *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kruseii*, dan *C. dubliniensis*. Kandida rekurens dapat disebabkan oleh strain yang sama atau strain yang berbeda.¹⁰⁻¹¹

Kandidiasis orofaring dikenal dengan tiga bentuk yaitu pseudomembran, eritematosa, dan *cheilitis angularis*. Kandidiasis pseudomembran mempunyai gejala berupa rasa terbakar, gangguan mengecap, dan sulit menelan makanan padat atau cair. Kandidiasis pseudomembran membentuk plak putih 1-2 cm atau lebih luas di mukosa mulut, jika dilepaskan pseudomembran tersebut akan meninggalkan bercak kemerahan atau perdarahan. Kandidiasis eritematosa berupa plak kemerahan halus di palatum mukosa bukal, atau permukaan dorsal lidah. *Cheilitis angularis* tampak berupa kemerahan, fisura, atau keretakan di sudut bibir. Kandidiasis esofagus biasanya muncul disertai kandidiasis orofaring (80% kasus), dengan gejala klinis berupa

disfagia, odinofagia, atau nyeri retrosternum, juga dapat tidak menunjukkan gejala (40% kasus).¹¹

Etiologi dan Patogenesis Kandidiasis

Kandidiasis/*yeast infection* adalah infeksi jamur yang terjadi karena adanya pembiakan jamur secara berlebihan, dimana dalam kondisi normal muncul dalam jumlah yang kecil. Perubahan aktivitas vagina atau ketidakseimbangan hormonal menyebabkan jumlah *Candida* berlipat ganda (muncul gejala Kandidiasis).^{7,11} Keadaan lain yang menyebabkan Kandidiasis adalah karena penyakit menahun, gangguan imun yang berat, AIDS, diabetes, dan gangguan tiroid, pemberian obat kortikosteroid dan sitostatika. Paparan terhadap air yang terus menerus seperti yang terjadi pada tukang cuci, kencing pada pantat bayi, keringat berlebihan terutama pada orang gemuk.^{4,7,11} Faktor lokal atau sistemik dapat memengaruhi invasi Kandida ke dalam jaringan tubuh. Usia merupakan faktor penting yang sering kali menyebabkan kandidiasis oral/*oral thrush* terutama pada neonatus. Perempuan dengan kehamilan trimester ketiga cenderung untuk mengalami kandidiasis vulvovaginal.^{1-4,7,11}

Keutuhan kulit atau membran mukosa yang terganggu dapat memberikan jalan kepada Kandida untuk masuk ke dalam jaringan tubuh yang lebih dalam dapat menyebabkan kandidemia seperti perforasi traktus gastrointestinalis oleh trauma, pembedahan serta ulserasi peptikum, pemasangan kateter *indwelling*, *internal feeding*, dialisis peritoneal, drainase traktus urinarius, luka bakar yang berat, dan penyalahgunaan obat bius intravena. Kandidiasis viseral akan menimbulkan neutropenia yang menunjukkan peran neutrofil dalam mekanisme pertahanan pejamu terhadap jamur ini. Lesi viseral ditandai oleh nekrosis dan respons inflamatorik neutrofilik. Sel neutrofil membunuh sel jamur *Candida* serta

merusak segmen pseudohifa secara *in vitro*. Kandida dalam sirkulasi darah dapat menimbulkan berbagai infeksi pada ginjal, hepar, menempel pada katup jantung buatan, meningitis, arthritis, dan endophthalmitis.^{1,3,7,10}

Sistem imun terhadap *Candida albicans* dan Kandidiasis

Sistem imun yang sehat mencegah organisme *yeast* ini berubah menjadi jamur yang berbahaya. Tubuh manusia yang kehilangan sistem imun menyebabkan organisme ini berubah dari *yeast form* menjadi *fungus form*. Pembentukan *parasitic fungus* bergerak memasuki mukosa gastrointestinal dengan merusak batas pertahanan antara *intestinal tract* dan keseluruhan sirkulasi dalam tubuh. Keadaan ini menyebabkan sebagian *digested dietary proteins* masuk ke dalam aliran darah (mempunyai kekuatan antigenik/*antibody-stimulating*) berusaha menyerang pertahanan sistem imun tubuh. Aktivasi sistem imun terjadi akibat penggunaan antibiotik yang berkepanjangan, pemakaian steroid, kontrasepsi oral, diet gula yang berlebihan atau stres.⁹⁻¹¹

Manifestasi dan Gejala Kandidiasis

Kandidiasis oral memberikan gejala bercak berwarna putih yang konfluen dan melekat pada mukosa oral serta faring, khususnya di dalam mulut dan lidah. Kandidiasis kulit ditemukan pada daerah intertriginosa yang mengalami maserasi serta menjadi merah, paronikia, balanitis, ataupun pruritus ani, di daerah perineum dan skrotum dapat disertai dengan lesi pustuler yang diskrit pada permukaan dalam paha.^{1,5,8}

Kandidiasis vulvovagina biasanya menyebabkan keluhan gatal, keputihan, kemerahan di vagina, disparenia, disuria, pruritus, terkadang nyeri ketika berhubungan seksual atau buang air kecil, pembengkakan vulva dan labia dengan lesi pustulopapuler diskrit, dan biasanya gejala memburuk sebelum menstruasi.

Pemeriksaan dengan spekulum memperlihatkan mukosa yang mengalami inflamasi dan eksudat cair berwarna putih.^{1,5,8,11} Kandidiasis mukokutaneus kronik atau kandidiasis granulomatous secara khas ditemukan sebagai lesi kulit sirkumkripta yang mengalami hiperkeratosis, kuku jari mengalami distrofi serta hancur, atau alopesia parsial pada kulit kepala. Gejala lain meliputi epidermofitosis kronik, displasia gigi, hipofungsi kelenjar paratiroid, adrenal, serta tiroid.^{1,5,8} Kandidiasis esofagus memberikan gejala ulserasi kecil, dangkal, soliter hingga multipel cenderung terdapat pada bagian sepertiga distal yang menyebabkan keluhan disfagia atau nyeri substernal. Lesi yang bersifat asimtomatik dapat terjadi pada pasien leukemia sebagai *port d'entre* untuk kandidiasis diseminata. Lesi asimtomatik dan benigna juga terjadi pada traktus urinarius berupa abses renal atau kandidiasis kandung kemih.^{1,5,8}

Kandida yang menyebar secara hematogen disertai gejala demam tinggi disebabkan oleh abses retina yang meluas ke vitreus. Pasien dapat mengeluh nyeri orbital, penglihatan kabur, skotoma, atau opasitas yang melayang dan menghalangi lapang pandang penglihatan. Kandidiasis pulmonalis dapat terlihat dengan foto toraks dengan gambaran infiltrat noduler yang samar atau difus.^{1,4-5,8}

Terapi Kandidiasis

Kandidiasis mulut dan mukokutan dapat diobati dengan nistatin topikal, gentian violet, ketokonazol, dan flukonazol. Kandidiasis pada daerah yang mengalami maserasi, memperlihatkan respons terhadap upaya untuk mengurangi kelembaban kulit dan iritasi dengan pemakaian preparat antifungus yang dioleskan secara topikal dalam bahan dasar nonoklusif. Kandidiasis vulvovaginitis memberikan respons yang lebih baik terhadap golongan azol, seperti klotrimazol, mikonazol, ekonazol, ketokonazol, sulkonazol, dan oksinazol

merupakan obat pilihan untuk *C. albicans* yang dipakai sebagai krim atau losion.^{2,4-5,8,10}

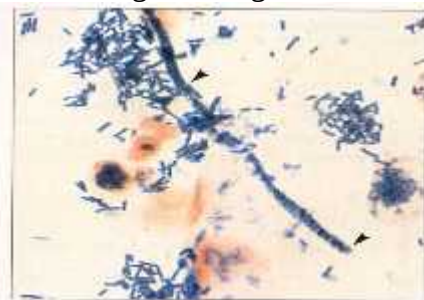
Diagnosis Kandidiasis

Diagnosis kandidiasis ditentukan berdasarkan gejala klinis yang menyebar dan tidak mudah dibedakan dari *infectious agent* yang telah ada. Diagnosis laboratorium dapat dilakukan melalui pemeriksaan spesimen mikroskopis, biakan, dan serologi. Tujuan pemeriksaan laboratorium adalah untuk menemukan *C. albicans* di dalam bahan klinis baik dengan pemeriksaan langsung maupun dengan biakan. Bahan pemeriksaan bergantung pada kelainan yang terjadi, dapat berupa kerokan kulit atau kuku, dahak atau sputum, sekret bronkus, urin, tinja, usap mulut, telinga, vagina, darah, atau jaringan. Cara mendapatkan bahan klinis harus diusahakan dengan cara steril dan ditempatkan dalam wadah steril, untuk mencegah kontaminasi jamur dari udara.^{3,6-7,12} Identifikasi spesies dapat dilakukan dengan uji morfologi dan kultur jamur untuk spesifikasi dan uji sensitivitas. Pemeriksaan ini tidak disarankan untuk digunakan sebagai diagnosis karena

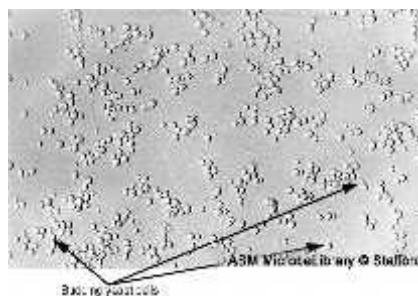
tingginya kolonisasi. Diagnosis pada lesi Kandida juga dapat dilakukan dengan pemeriksaan histologi terhadap sayatan spesimen hasil biopsi.^{3-4,6,11}

Pemeriksaan Langsung *Candida albicans* dengan Larutan KOH

Pemeriksaan langsung dengan Larutan KOH dapat berhasil bila jumlah jamur cukup banyak. Keuntungan pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan cara sederhana, dan terlihat hubungan antara jumlah dan bentuk jamur dengan reaksi jaringan.⁵⁻⁶ Pemeriksaan langsung harus segera dilakukan setelah bahan klinis diperoleh sebab *C. albicans* berkembang cepat dalam suhu kamar sehingga dapat memberikan gambaran yang tidak sesuai dengan keadaan klinis.⁵⁻⁶ Gambaran pseudohifa pada sediaan langsung/apus dapat dikonfirmasi melalui pemeriksaan kultur, merupakan pilihan untuk menegaskan diagnosis kandidiasis superfisial. Bentuk pseudohifa pada pewarnaan KOH dapat dilihat pada Gambar 2 berikut ini.⁵⁻⁶



(1)



(2)

Gambar 2 (1) Pseudohifa pada pewarnaan KOH (mata anak panah).

(2) Budding yeast cells (anak panah).

(Dikutip dari: Murray²⁰)

Pemeriksaan Langsung *Candida albicans* dengan Pewarnaan Gram

Pemeriksaan langsung dengan pewarnaan Gram sedikit membutuhkan waktu dibandingkan pemeriksaan dengan KOH. Pemeriksaan ini dapat melihat jamur *C. albicans* berdasarkan morfologinya, tetapi tidak dapat mengidentifikasi spesiesnya.

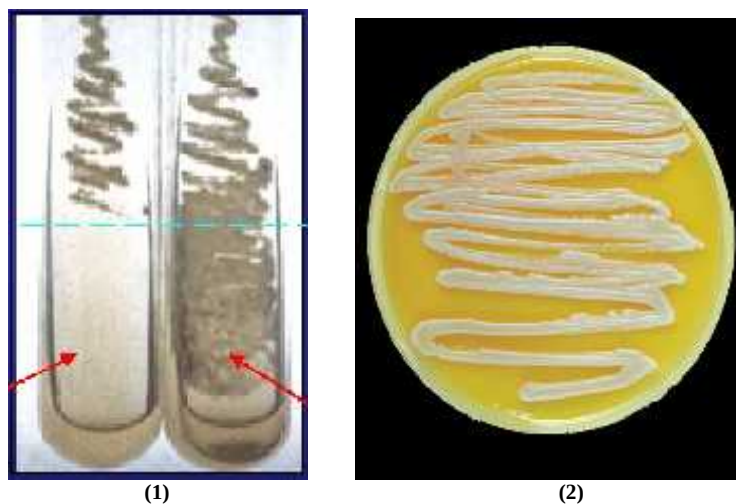
Pemulasan dengan pewarnaan Gram dapat disimpan untuk penilaian ulangan.⁵⁻⁶ Pewarnaan Gram memperlihatkan gambaran seperti sekumpulan jamur dalam bentuk blastospora, hifa atau *pseudohyphae*, atau campuran keduanya. Sel jaringan seperti epitel, leukosit, eritrosit, dan mikroba lain seperti bakteri atau parasit

juga dapat terlihat dalam sediaan. Jamur muncul dalam bentukan *budding yeast cells* dan *pseudomycelium* juga terlihat pada sebagian besar sediaan seperti pada Gambar 2.⁴⁻⁶

Pemeriksaan Kultur pada *Candida albicans*

Media kultur yang dipakai untuk biakan *C. albicans* adalah *Sabouraud dextrose agar*/SDA dengan atau tanpa antibiotik,⁵⁻⁶ ditemukan oleh *Raymond Sabouraud* (1864-1938) seorang ahli dermatologi berkebangsaan Perancis. Pemeriksaan kultur dilakukan dengan mengambil sampel cairan atau kerokan sampel pada tempat infeksi, kemudian diperiksa secara berturutan menggunakan *Sabouraud's dextrose broth* kemudian *Sabouraud's dextrose agar plate*. Pemeriksaan kultur darah sangat berguna untuk endokarditis kandidiasis dan sepsis. Kultur sering tidak memberikan hasil yang positif pada bentuk penyakit diseminata lainnya.⁵⁻⁶ *Sabouraud's dextrose broth*/SDB berguna untuk membedakan *C. albicans* dengan

spesies jamur lain seperti *Cryptococcus*, *Hasenula*, *Malaesezzia*. Pemeriksaan ini juga berguna mendeteksi jamur kontaminan untuk produk farmasi. Pembuatan SDB dapat ditempatkan dalam tabung atau *plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, setelah 3 hari tampak koloni *C. albicans* sebesar kepala jarum pentul, 1-2 hari kemudian koloni dapat dilihat dengan jelas. Koloni *C. albicans* berwarna putih kekuningan, timbul di atas permukaan media, mempunyai permukaan yang pada permulaan halus dan licin dan dapat agak keriput dengan bau ragi yang khas. Pertumbuhan pada SDB baru dapat dilihat setelah 4-6 minggu, sebelum dilaporkan sebagai hasil negatif. Jamur dimurnikan dengan mengambil koloni yang terpisah, kemudian ditanam seujung jarum biakan pada media yang baru untuk selanjutnya dilakukan identifikasi jamur. Pertumbuhan *C. albicans* dan jamur lain/*C. dublinensis* pada SDB dapat dilihat pada Gambar 3 di berikut ini.¹⁴⁻¹⁵



Gambar 3. (1) Pertumbuhan *C. albicans* dan *C. dublinensis* pada SDB. (2) Pertumbuhan *C. albicans* pada SDA berbentuk krim berwarna putih, licin disertai bau yang khas.²⁰

Sabouraud's dextrose agar plate/SDA *plate* direkomendasikan untuk sampel atau bahan klinis yang berasal dari kuku dan kulit. Media ini selektif untuk fungi dan *yeast* melihat pertumbuhan dan identifikasi *C. albicans* yang mempunyai pH asam/pH 5,6.¹⁴ Penambahan antibiotika membuat

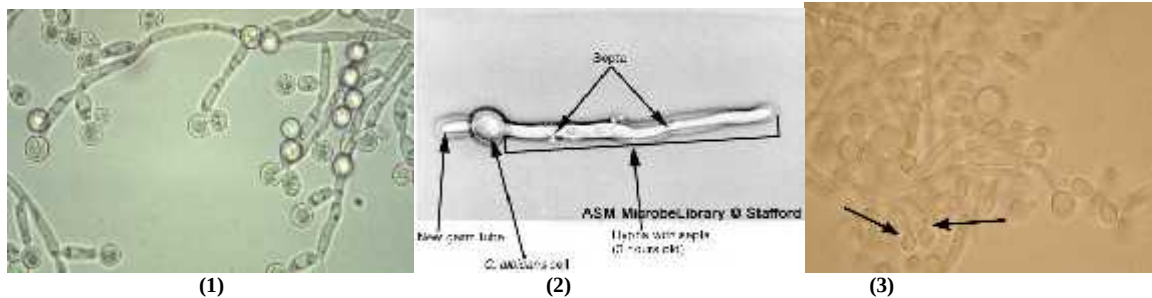
media ini lebih selektif yang bertujuan untuk menekan bakteri yang tumbuh bersama jamur di dalam bahan klinis.^{4-6,13-14} Pertumbuhan pada SDA *plate* terlihat jamur yang menunjukkan tipikal kumpulan mikroorganisma yang tampak seperti krim putih dan licin disertai bau khas/*yeast*

odour. Pertumbuhan SDA plate dapat dilihat pada Gambar 3.^{6,13-14}

Identifikasi *Candida albicans* dengan Corn Meal Candida Agar

Corn meal Candida/CMA agar berguna untuk membedakan spesies *C. albicans* dengan *Kandida* yang lain, ditemukan oleh Hazen and Reed. Media ini memperlihatkan bentuk hifa, blastokonidia, *chlamydospores*, and *arthrospores* dengan jelas. Khusus pada *Kandida* adalah untuk melihat bentuk

chlamydospores. Pemeriksaan ini juga dapat dilakukan kultur pada kaca objek/slide culture untuk melihat morfologi *C. albicans*. Bercak koloni yang diduga sebagai *C. albicans* ditanam pada CMA (pH 7) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48-72 jam. Pertumbuhan *Kandida* pada CMA akan memperlihatkan bentuk *chlamydospore* yang berukuran besar, sangat refraktif, dan berdinding tebal. Gambaran *chlamydospore* dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini.¹⁶



Gambar 4. (1) *Chlamydospore*. (2) *Clamydospore* membentuk *germ tube* baru. (3) *Germ tube* mulai terbentuk dari hifa sejati (anak panah).^{6,20}

Identifikasi *Candida albicans* dengan Germ Tube

Germinating blastospores/germ tube terlihat berbentuk bulat lonjong seperti tabung memanjang dari *yeast cells* (*Reynolds-Braude phenomenon*) pada serum manusia yang ke dalamnya disuntikkan koloni yang diduga sebagai *strain* *Kandida* ke dalam tabung kecil dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 jam. *Germ tube* terbentuk dalam dua jam setelah proses inkubasi. Bagian ujung yang menempel pada *yeast cells* terlihat adanya pengerutan/pengecilan (tidak ada konstiksi). Bentuk *germ tube* dari *C. albicans* dapat dilihat pada Gambar 4.^{7,10,21}

Pemeriksaan kultur dengan *Hichrome Candida Agar* pada *Candida albicans*

Identifikasi juga dapat dilakukan dengan kultur pada media *hichrome candida agar/HCA* yang digunakan untuk mendapatkan hasil identifikasi *Candida* yang berbeda dan lebih spesifik. *Hichrome Candida agar*/pH 6.5 digunakan untuk *presumptive identification* spesies *Kandida* yang penting secara klinis. Bahan klinis dapat ditanam secara langsung pada HCA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positif memperlihatkan koloni terlihat berwarna hijau kemilau. Bentuk dan warna *C. albicans* yang terlihat tumbuh pada HCA dapat dilihat pada Gambar 6 di bawah ini.¹⁹



Gambar 6. *Candida albicans* yang ditanam pada *Hicrome Candida Agar* memperlihatkan warna hijau kemilau/hijau terang.¹⁹

Pemeriksaan *Candida albicans* dengan Uji Biokimiawi

Uji biokimiawi dilakukan dengan pemeriksaan asimilasi karbohidrat untuk konfirmasi spesies kandida. *Carbohydrate assimilation test* yaitu mengukur kekuatan yeast dalam memaksimalkan karbohidrat tertentu sebagai bahan dasar karbon dalam oksigen. Hasil reaksi positif mengindikasikan adanya pertumbuhan/

perubahan pH yang terjadi pada media yang diuji dengan memanfaatkan gula sebagai bahan dasar. Pemeriksaan ini membutuhkan waktu inkubasi selama 10 hari pada suhu 37°C. Hasil produksi berupa gas dibandingkan pH standar merupakan indikasi adanya proses fermentasi. Hasil positif dan hasil negatif pemeriksaan ini dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.^{6-7,10,8}

Tabel 1. Perubahan fermentasi dan asimilasi karbonhidrat pada uji biokimiawi

	Klamido spora	Fermentasi						Asimilasi				
		glu	mal	suk	lak	glu	mal	suk	lak	gal	eta	arb
<i>C. albicans</i>	+	F	F	-	-	+	+	+	-	+	-	-
<i>C. dublinensis</i>	+	F	F	-	-	+	+	+	-	+	0	0
<i>C. glabrata</i>	-	F	-	-	-	+	+	-	-	-	0	0
<i>C. guilliermondii</i>	-	F	-	F	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>C. kefyr</i>	-	F	-	F	F*	+	-	+	+	+	0	0
<i>C. Krusei</i>	-	F	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>C. lusitaniae</i>	-	F	-	F	-	+	+	+	-	+	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	-	F	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
<i>C. tropicalis</i>	*	F	F	F	-	+	+	+	-	+	-	-
<i>C. stellatoidea</i>	-	F	F	-	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>C. Pseudotropicalis</i>	-	F	-	F	F	+	-		+	+	-	+

Keterangan: F = Fermentasi, F* = Kadang-kadang reaksinya berlawanan, * = Klamidospora tumbuh pada keadaan tertentu, 0 = Tidak ditemukan hasil.¹⁰

Pemeriksaan Aktivitas Fosfolipase *Candida albicans*

Pemeriksaan yang masih baru dan sudah mulai dilakukan pada tahap penelitian adalah pemeriksaan aktivitas fosfolipase (*Pz value*). Pemeriksaan ini mengukur enzim hidrolitik yang disekresi pada infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans*, dan juga dapat diukur aktivitasnya adalah proteinase. Kedua enzim ini menyebabkan destruksi membran ekstraseluler dan

berperan pada proses infeksi *C. albicans* ketika terjadi invasi melalui mukosa membran sel epitel. Sampel yang dipakai pada pemeriksaan ini adalah strain *C. albicans* dari isolat yang sudah diketahui, kemudian ditanam pada media agar yang mengandung SDA. Gambar 7 memperlihatkan zona yang terbentuk dari koloni yang tumbuh pada media agar, dan pengukuran aktivitas fosfolipase dilihat pada Tabel 1.²²



Gambar 7. Aktivitas fosfolipase pada koloni *C. albicans* yang tumbuh pada media agar.²²

Pengukuran aktivitas fosfolipase dilakukan berdasarkan zona yang terbentuk pada media agar kemudian dihitung dengan menggunakan rumus. Hasil perhitungan tersebut kemudian dilakukan penilaian dengan menggunakan Tabel standar.²²

Tabel 2. Pengukuran dan Perhitungan Aktivasi Fosfolipase

Pz value (Nilai Pz)	Hasil
1	Negatif
0.90-0.99	+
0.80-0.89	++
0.70-0.79	+++
<0.70	++++

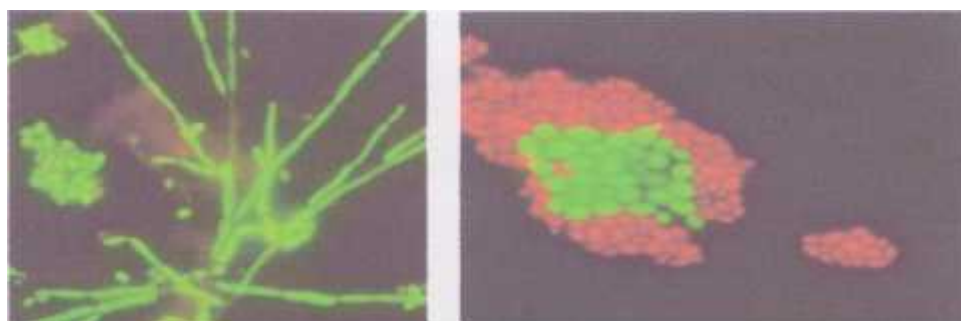
Keterangan: Pz = zona fosfolipase²²

Pemeriksaan Serologi dan Biologi Molekuler pada *Candida albicans*

Pemeriksaan serologi terhadap *Candida albicans* dapat menggunakan metode imunofluoresen/fluorecent antibody test yang sudah banyak tersedia dalam bentuk rapid test. Hasil pemeriksaan harus sejalan dengan keadaan klinis penderita, ini disebabkan karena tingginya kolonisasi. Pemeriksaan *Candida albicans* dengan metode serologis sangat berguna untuk kandidiasis sistemik.^{8,19,23} Pemeriksaan biologi molekuler untuk *C.albicans* dilakukan dengan polymerase chain reaction/PCR, restriction fragment length polymorphism/RFLP, peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization/PNA FISH dan sodium dodecyl sulphate-poly acrylamide gel electrophoresis/SDS-

PAGE. Pemeriksaan biologi molekuler untuk *Candida albicans* sangat berguna karena dapat memberikan hasil yang lebih cepat dari pada pemeriksaan dengan biakan.^{21-22,24-25}

Pemeriksaan dengan PCR untuk identifikasi spesies kandida, hasilnya cukup cepat akan tetapi kurang sensitif dibandingkan dengan biakan pada media. Sekarang ini belum berhasil dibuat oligonukleotida primer yang spesifik untuk *Candida albicans*. Amplifikasi dengan PCR dan analisis restriksi enzim dengan RFLP sudah dapat dipakai untuk mengetahui genotipe dari *Candida albicans*. Pembacaan hasil dari kedua pemeriksaan tersebut dilakukan dengan menggunakan sinar UV illumination dan gel image dengan alat khusus, dan terbaca sebagai bentuk pita (band).²⁴⁻²⁶ Pemeriksaan PNA FISH adalah hibridisasi asam nukleat untuk identifikasi *Candida albicans* dan *Candida glabrata*, dengan sampel yang dipakai adalah kultur darah. Pemeriksaan dapat dilakukan langsung dari hasil kultur yang jamur positif, dapat juga dilakukan pada semua jenis sampel dari media kultur darah. Pemeriksaan ini menggunakan label fluoresen untuk melapisi ribosomal RNA/rRNA *Candida albicans*. Gambaran *Candida albicans* dari mikroskop fluoresen dapat dilihat pada Gambar 8 berikut ini.²⁶



Gambar 8. *Candida albicans* pada PNA FISH terlihat berwarna hijau terang berfluoresen yang dilakukan pembacaan dengan mikroskop fluoresen.²⁶

Deteksi antibodi terhadap *Candida albicans* sudah dapat dilakukan terhadap enolase dengan metode SDS-PAGE, serta deteksi antigen jamur terhadap *mannan*, *(1,3)-Beta-D-Glucan*, dan enolase. Pemeriksaan ini sudah dilakukan pada tahap penelitian, tetapi sampai saat ini hasil yang didapat belum memuaskan baik dari sensitifitas maupun spesifitasnya. Pemeriksaan SDS-PAGE diawali dengan membuat subkultur *Candida albicans* yang ditanam pada media *yeast-extract-peptone-dextrose/YEPD*. Media ini terdiri dari dekstrosa sebagai bahan utama dan menyediakan karbon, nitrogen, mineral, vitamin sebagai nutrisi untuk pertumbuhan jamur. Hasil biakan disentrifugasi kemudian dilakukan pemeriksaan fraksinasi sel dengan SDS-PAGE. Pembacaan hasil dilakukan dengan pengukuran, dan melihat profil *polypeptide band* dengan menggunakan seperti pada Gambar 9.^{4-8,18,21}



Gambar 9. Profil *polypeptide band* SDS-PAGE dari enolase *C.albicans*: (1). maker protein standar, dan (2). sampel enolase.⁶

Penelitian mendalam mengenai identifikasi dan karakteristik terhadap antigen akan sangat berguna dalam proses diagnosis dan pengobatan kandidiasis.^{10,20,24,26}

Daftar Pustaka

1. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I. Dalam: Ilmu Penyakit Dalam. 2nd ed. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 2009:2267
2. Sudjana P. Infeksi Jamur pada Penderita HIV. Simposium Penyakit Infeksi. Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Rumah Sakit Hasan Sadikin. Bandung. 2008. Diunduh dari: www.interne-rshs.com. Tanggal: 26/10/2010
3. Babic M, Hukic M. *Candida albicans* and Non-albicans Species as Etiological Agent of Vaginitis in Pregnant and Non-Pregnant Women. Institute for Clinical Microbiology. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences. Sarajevo. 2010;10 (1): 92-7
4. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, et al. 2nd ed. World Health Organization. Geneva. 2003:61, 76, 144-150
5. Greenwood D, Slack R, Peutherer J, et al. Medical Microbiology A Guide to Microbial Infection: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control. Churchill Livingstone Elsevier. Edinburgh. 2007:60, 596, 602-4,614-16
6. Bhavan PS, Rajkumar R, Radhakrishnan S. Culture and Identification of *Candida albicans* from Vaginal Ulcer and Separation of Enolase on SDS-PAGE. International Journal of Microbiology. CCSE. Coimbatore. 2010:84-93
7. Suprihatin SD. Kandida dan Kandidiasis pada Manusia. FKUI. Jakarta. 1982:9-13,25-32
8. Larone DH. Medical Important Fungi A Guide to Identification. 2nd ed. New York. 1986:19,54,173-185
9. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology 12th ed. Mosby Elsevier. Chicago. 2007:631, 640-56, 700,703-4, 778,860

10. Budimulja U, Kuswardji, Bramono K. Dermatmikosis Superfisialis. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. 2004:58-87
11. Mahon CR, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. 2nd ed. WB Saunders. Philadelphia. 2000:191-208, 711-753
12. Warren L. Review of Medical Microbiology and Immunology. 10th ed. Lange McGraw Hill. San Fransisco. 2008:336-52
13. Paul ME, Shearer WT. Evalutian of the Immunodeficient Patient. Dalam: Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder HW Jr. Clinical Immunology Principles and Practise 3th ed. Mosby Elsevier. Philadelphia. 2008:463-91
14. Yuniastuti E, Djauzi S, Djoerban Z. Infeksi Oportunistik pada AIDS. Pokdisus AIDS-PDPAI. Balai Penerbit FUKUI. Jakarta. 2005:16-20
15. Giammanco GM. Candida. Diunduh dari: www.mold.ph. Tanggal: 18/8/2010
16. Biotec Laboratory Ltd. Sabouraud Dextrose Agar. 2006. Diunduh dari: www.biotec.com. Tanggal: 8/18/2010
17. Biosciences Whatman Filtration Schleicher Schuell Laboratory. The Medium is Used for the Quantitative Identification of Yeast and Mold. Kent. Diunduh dari: <http://www.medibix.com/goto.php?ste=www.whatman.com>. Tanggal: 8/18/2010
18. Oxoid Manual. Oxoid Limited. 2001–2010. Diunduh dari: www.oxoid.com. Tanggal: 18/8/2010
19. The Chormogenic Media Pioneer CHROMagar™ Candida. Kit insert. Diunduh dari: www.chromagar.com. Tanggal: 18/8/2010
20. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen Jh, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press. Washington DC. 2003:1696-9
21. Iwen PC. Mycotic Disease. Dalam: McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 21st ed. Saunders Elsevier. Philadelphia. 2007: 1097-8
22. Mahmoudabadi AZ, Zarrin M, Miry S. Pospholipase Activity of Candida albicans Isolated from Vagina and Urine Samples. Jundishapur Journal of Microbiology. Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences. Ahvaz-Iran. 2010:(3)4
23. Jha BK, Dey S, Tamang MD. Characterization of Candida species isolated from cases of lower respiration tract Infection. Katmandu University Medical Journal. Kathamandu. Vol. 4, No. 3. Issue 15. 2006:290-4
24. Beeson L, Beydonun S, Botz DM. Brunner & Suddarth's Handbook of laboratory and Diagnostic Test. Lippicott Williams & Wilkins. Philadelphia. 2010:123-4
25. Ellsworth JH, Reiss E, Bradley RL. Comparative Serological and Cutaneous Reactivity of Candidal Cytoplasmic Proteins and Mannan Seprated by Affinity for Concanavalin A. Journal Clinical of Microbiology. Vol. 5(1). 1977:91-99
26. PNA FISH. Probes for Identification of Candida Species from Blood Cultures. American Society of Microbiology. 2010.