
PENGARUH *NYSTATIN* KOMBINASI TERAPI OKSIGEN HIPERBARIK TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT PADA TIKUS MODEL KANDIDIASIS ORAL IMUNOSUPRESI

Syarifah Fatimatuzzahra¹, Agni Febrina Pargaputri², Dwi Andriani², Isidora Karsini³

¹Faculty of Dentistry, Universitas Hang Tuah

²Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Universitas Hang Tuah

³Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Universitas Hang Tuah

Korespondensi: Agni Febrina Pargaputri; Email: agni.febrina@hangtuah.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Kandidiasis oral merupakan infeksi jamur pada rongga mulut yang sebagian besar disebabkan oleh jamur jenis *Candida*. Limfosit berperan sebagai pertahanan utama *host* dalam melawan infeksi jamur pada permukaan mukosa dan epidermis. Penggunaan obat antijamur *nystatin* efektif untuk pengobatan infeksi jamur, sedangkan terapi oksigen hiperbarik diketahui sebagai salah satu terapi *adjuvant* dalam mengeliminasi infeksi jamur, sehingga pemberian kombinasi *nystatin* dan terapi oksigen hiperbarik diharapkan dapat berpengaruh pada sel limfosit dalam melawan infeksi jamur. **Tujuan:** Membuktikan pengaruh *nystatin* kombinasi terapi oksigen hiperbarik terhadap jumlah limfosit pada tikus model kandidiasis oral imunosupresi. **Metode:** Tikus strain Wistar sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok: K1 (tikus sehat), K2 (tikus model kandidiasis oral imunosupresi), K3 (tikus model kandidiasis oral imunosupresi diberi *nystatin* topikal), K4 (tikus model kandidiasis oral imunosupresi diberi terapi oksigen hiperbarik), dan K5 (tikus model kandidiasis oral imunosupresi diberi kombinasi *nystatin* topikal dan terapi oksigen hiperbarik). Tikus pada K2, K3, K4, dan K5 diimunosupresi dengan deksametason peroral selama 14 hari. *Candida albicans* dioleskan pada *dorsum linguae* tikus untuk menginduksi kandidiasis. *Nystatin* topikal 0,5 cc diberikan pada K3 dan K5, terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA diberikan pada K4 dan K5 selama 5 hari. Jumlah limfosit pada lidah tikus diamati menggunakan mikroskop pembesaran 400x. **Hasil:** Uji statistik *Post-Hoc LSD* menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kelompok K1 dibandingkan K2, K2 dibandingkan dengan K1, K3, K4, dan K5, sedangkan pada kelompok K3, K4, dan K5 tidak terdapat perbedaan bermakna. **Kesimpulan:** Kombinasi *nystatin* dan terapi oksigen hiperbarik berpengaruh pada peningkatan jumlah limfosit model oral kandidiasis imunosupresi.

Kata kunci: Imunosupresi, kandidiasis oral, limfosit, *nystatin*, terapi oksigen hiperbarik.

Combination of Nystatin and Hyperbaric Oxygen Treatment Affect Lymphocytes in Oral Candidiasis Immunosuppressed Rats

ABSTRACT

Background: Oral candidiasis is a fungal infection in oral mucosa caused by *Candida*. Lymphocytes act as the host's main defense against fungal infections on the mucosal surface. The use of *nystatin* is effective for fungal infections, while hyperbaric oxygen therapy is known as one of the adjuvant therapies in eliminating fungal infections, so that the combination of these therapy is expected to affect lymphocyte cells in eliminate fungal infections. **Objective:** To determine the effect of combination *nystatin* and hyperbaric oxygen therapy to number of lymphocytes in oral candidiasis immunosuppressed model. **Method:** Twenty-five Wistar rats were divided into 5 groups: K1(healthy rats), K2(oral candidiasis immunosuppressed rats), K3(oral candidiasis immunosuppressed rats with topical *nystatin*), K4(oral candidiasis immunosuppressed rats with hyperbaric oxygen therapy), and K5(oral candidiasis immunosuppressed rats with combination of *nystatin* and hyperbaric oxygen therapy). Rats in K2, K3, K4, and K5 were immunosuppressed by giving dexametason orally for 14 days. *Candida albicans* were spread at *dorsum linguae* of the rats. Topical *nystatin* 0,5 cc was given to K3 and K5, and hyperbaric oxygen therapy 2,4 ATA was given to K4 and K5 for 5 days. Observation of lymphocytes using a microscope at 400x magnification. **Result:** The result of statistical *Post-Hoc LSD* test showed a significant difference in K1 compared to K2, K2 compared to K1, K3, K4, and K5, while there was no significant difference between K3, K4 and K5. **Conclusion:** Combination of *nystatin* and hyperbaric oxygen therapy effects the number of lymphocytes in oral candidiasis immunosuppressed model.

Keywords: Immunosuppression, oral candidiasis, lymphocyte, *nystatin*, hyperbaric oxygen therapy

PENDAHULUAN

Kandidiasis oral adalah infeksi jamur pada mukosa rongga mulut yang disebabkan oleh jamur jenis *Candida*, komponen dari mikroflora normal rongga mulut.^{1,2} Sebagian besar kasus sebanyak 88,8% disebabkan oleh *Candida albicans* (*C. albicans*).³ Prevalensi terjadinya kandidiasis di Indonesia sebesar 20-25%,⁴ dengan kandidiasis oral yang mencapai 69,3% kasus pada pria dan 30,7% pada wanita.⁵ Kandidiasis oral juga merupakan infeksi umum pada pasien terinfeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) yang diamati pada lebih dari 90% pasien selama infeksi HIV.⁶

Limfosit terdiri atas limfosit T yang bertanggung jawab dalam pembentukan limfosit teraktivasi yang dapat membentuk imunitas, dan limfosit B yang bertanggung jawab dalam pembentukan antibodi.⁷ Kondisi penurunan reaksi antibodi sel B dan sel T disebut dengan immunosupresi yang ditunjukkan dengan adanya tekanan, hambatan ataupun gangguan pada sistem kekebalan tubuh. Kondisi ini dapat dibuat pada hewan coba dengan cara memberikan kortikosteroid dan antibiotik spektrum luas.⁸ Selama imunitas yang dimediasi sel memberikan respon terhadap jamur, limfosit dapat melepaskan sitokin yang tidak hanya meningkatkan imunitas yang dimediasi sel tetapi juga memodulasi aktivitas antijamur dari leukosit polimorfonuklear dan makrofag. Selain itu, *Natural Killer Cell* (NK) dan *Interleukin-2 Activated Lymphocytes* (IAL) telah terbukti berinteraksi langsung dengan jamur dan menghambat pertumbuhannya.⁹

Terapi pada kandidiasis oral pada umumnya menggunakan obat golongan azoles dan polyenes, salah satunya adalah *nystatin*. *Nystatin* memiliki efek fungistatik dan fungisidal

yang sangat efektif dengan cara kerja mengikat ergosterol yang ada pada membran sitoplasma sel jamur, kemudian mengubah permeabilitas membrannya sehingga sel jamur akan kehilangan komponen vitalnya, ion-ion dan molekul akan keluar dari sel, lalu sel mati.¹⁰

Terapi oksigen hiperbarik merupakan terapi dengan menggunakan 100% oksigen secara bertahap dengan tekanan chamber lebih dari 1 atmosfer absolut (ATA). Indikasi terapi oksigen antara lain emboli gas, sindrom dekompresi, keracunan karbon monoksida dan asap, insufisiensi arteri, terapi pencangkakan kulit, penyakit iskemia akibat trauma, abses intrakranial, nekrosis jaringan lunak akibat infeksi, luka bakar dan kerusakan jaringan karena radiasi.¹¹ Terapi oksigen hiperbarik diketahui dapat meningkatkan kemampuan neutrofil untuk menghambat pertumbuhan spora jamur dan miselium.¹² Terapi oksigen hiperbarik menunjukkan aktivitas anti jamur dengan menghambat asidosis laktat, meningkatkan fagositosis dan meningkatkan aktivitas leukosit polimorfonuklear. Hal ini juga berperan dalam penyembuhan dengan meningkatkan ketegangan oksigen ke daerah hipoksia.¹³ Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan kombinasi *nystatin* dengan terapi oksigen hiperbarik terhadap jumlah limfosit tikus dengan kondisi kandidiasis oral immunosupresi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental* dengan rancangan *post-test only control group design*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kotak kandang tikus, timbangan analitik, *scalpel*, gunting bedah, tabung *sentrifuse*, pipet, pinset anatomi, pinset chirugis, spuit 5cc, *cotton bud* steril, kapas, tabung reaksi, *sentrifuse*, kotak

kaca. Bahan penelitian ini terdiri dari stok bakteri *C. albicans*, Saburoud Agar, Phosphat Buffer Saline (PBS), deksametason, tetrasiklin, *nystatin oral suspension* oksigen murni 100% dalam *hyperbaric chamber* 2,4 ATA, *povidone iodine* 10%, ketamin dan xylazine. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya, Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan berumur 3 bulan dengan berat badan 150-200 gram dikelompokkan secara random menjadi 5 kelompok yaitu K1 (tikus sehat), K2 (tikus yang diberi immunosupresi dan induksi *C.albicans*), K3 (tikus yang diberi immunosupresi dan induksi *C.albicans* serta diberikan *nystatin* secara topikal), K4 (tikus yang diberi immunosupresi dan induksi *C.albicans* serta diberikan terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA), dan K5 (tikus yang diberi immunosupresi dan induksi *C.albicans* serta diberikan kombinasi *nystatin* topikal dan terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA). Seluruh tikus diaklimatisasi selama 7 hari sebelum perlakuan. Kondisi immunosupresi pada kelompok K2, K3, K4 dan K5 diperoleh dengan memberikan deksametason peroral 0,5mg/hari/tikus, ditambahkan dengan tetrasiklin 1mg/hari/tikus pada hari ke-8 hingga 21. Induksi kandidiasis dilakukan pada hari ke-11 dengan memberikan *C. albicans* (ATCC-10231) sebanyak 0,1 cc yang mengandung 1×10^8 *C. Albicans* dalam PBS atau setara dengan 1 Mc.Farland, diulaskan pada seluruh permukaan lidah dengan menggunakan *cotton bud* steril. Induksi kandidiasis dilakukan setiap dua hari sekali hingga hari ke-22. Untuk mengkonfirmasi adanya infeksi jamur, dilakukan swab pada permukaan lidah tikus wistar dengan

menggunakan *cotton bud* steril kemudian ditanam dalam media *chrom agar*.^{14,15}

Pemberian *nystatin* topikal pada kelompok K3 dan K5 dimulai pada hari ke-23. *Nystatin* sediaan oral suspension diberikan dengan cara diteteskan pada permukaan lidah tikus Wistar sebanyak 0,5 cc menggunakan pipet. Diberikan 1x sehari pada waktu yang sama, selama 5 hari. Terapi oksigen hiperbarik diberikan pada kelompok K4 dan K5 selama 5 hari berturut-turut mulai hari ke-23. Hewan coba diletakkan dalam *monoplace chamber*, kemudian dilakukan peningkatan tekanan hingga 2,4 ATA dan dialirkan oksigen murni (100%) selama 3x30 menit/hari dengan interval 5 menit bernafas dengan udara biasa, setelah itu dihentikan dan diturunkan sampai ke kondisi semula (1 ATA). Setelah dilakukan terapi, hewan coba dikeluarkan dari *chamber* dan dibawa kembali ke kandang semula.¹⁴ Selama terapi, tikus tetap diberi tetrasiklin 1 mg/hari untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri. Pada akhir penelitian, seluruh hewan coba pada kelompok penelitian di euthanasia kemudian diambil lidahnya dan dibuat preparat sediaan histopatologi dengan pengecatan hematoxylin eosin. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali.

Analisis data dilakukan dengan uji *Saphiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas data, kemudian dilanjutkan dengan Uji *Levene Statistic* untuk mengetahui homogenitas data. Analisis data menggunakan uji *ANOVA* untuk mengetahui perbedaan jumlah limfosit dari kelompok penelitian, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok penelitian.

HASIL PENELITIAN

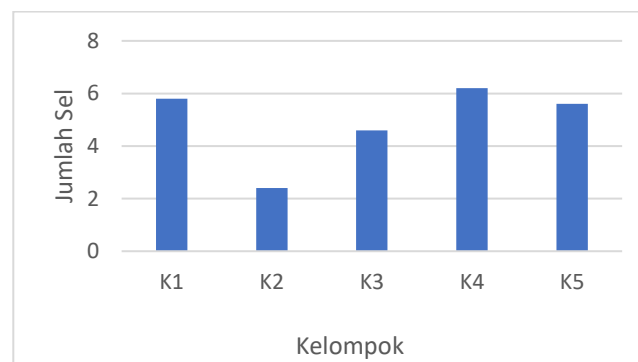
Gambar 1 menunjukkan jumlah limfosit mengalami penurunan pada kelompok tikus dengan kondisi oral kandidiasis immunosupresi (K2) dibandingkan dengan seluruh kelompok. Pada kelompok tikus dengan kondisi kandidiasis oral immunosupresi yang diberi *nystatin* topikal (K3) menunjukkan peningkatan jumlah limfosit dibandingkan dengan K2. Kelompok tikus dengan kandidiasis oral immunosupresi yang diberikan terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA (K4) menunjukkan peningkatan limfosit, sedangkan kelompok tikus dengan kondisi kandidiasis oral immunosupresi yang diberikan *nystatin* topikal kombinasi terapi oksigen hiperbarik (K5)

mengalami peningkatan jumlah limfosit dibandingkan dengan kelompok K2. Rerata jumlah limfosit pada kelompok K4 menunjukkan jumlah tertinggi dibandingkan semua kelompok, sedangkan pada kelompok K5 menunjukkan rerata jumlah limfosit mendekati jumlah limfosit pada kelompok sehat (Tabel 1).

Hasil uji *Post-Hoc LSD* (Tabel2) menunjukkan perbedaan yang signifikan pada kelompok K1 apabila dibandingkan dengan K2, kelompok K2 dibandingkan dengan kelompok K1, K3, K4, dan K5. Sedangkan antara kelompok K3, K4, dan K5 menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan.

Tabel 1. Rerata dan simpangan baku jumlah limfosit pada setiap kelompok penelitian

Kelompok	Rerata $\pm$ Simpangan Baku
K1	5,8 $\pm$ 2,0
K2	2,4 $\pm$ 0,5
K3	4,6 $\pm$ 0,5
K4	6,2 $\pm$ 2,3
K5	5,6 $\pm$ 1,1



Gambar 1. Grafik rata-rata jumlah limfosit pada masing-masing kelompok penelitian

Tabel 2. Hasil uji *Pst-Hoc LSD* jumlah limfosit antar kelompok penelitian

Kelompok Penelitian	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0.002*	0.221	0.678	0.836
K2			0.031*	0.001*	0.003*
K3				0.108	0.305
K4					0.535
K5					

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan kelompok K2 memiliki rerata jumlah limfosit paling kecil dibandingkan dengan kelompok penelitian lainnya. Hal ini terjadi karena peran deksametason sebagai obat imunosupresan yang menekan imunitas dengan menghambat sitokin seperti IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 dan IFN- γ . Hambatan terhadap IL-2 akan menurunkan proliferasi limfosit T dan limfosit B serta peningkatan sel *natural killer* (NK).⁷

Hasil statistik deskriptif menunjukkan rerata jumlah limfosit pada kelompok K3 meningkat dibandingkan dengan K2 namun belum bisa kembali pada rerata jumlah limfosit keadaan sehat (K1). Pada kelompok K4 menunjukkan peningkatan rerata jumlah limfosit dibandingkan dengan K2 namun jumlahnya melebihi rerata limfosit pada keadaan sehat. Jumlah rerata limfosit yang tinggi ini merupakan efek normal dari kerja sistem kekebalan tubuh, puncak proliferasi limfosit diamati terjadi pada hari ke 4 setelah aktivasi. Pemaparan oksigen bertekanan tinggi dengan terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA dapat menginduksi aktivasi pertahanan antioksidan limfosit untuk melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berasal dari terapi oksigen hiperbarik, mampu mengaktifkan antioksidan limfosit, salah satunya GPx1 yang pertama kali diaktifkan untuk mendetoksifikasi ROS. Meskipun ROS bersifat toksik, bila diproduksi dengan dosis yang tepat atau rendah dapat dianggap sebagai sinyal dan stimulator seluler sistem kekebalan tubuh.¹⁷

Jumlah limfosit pada kelompok K3, K4, dan K5 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan, akan tetapi jika dilihat dari hasil statistik deskriptif menunjukkan jumlah rerata limfosit yang paling mendekati K1 atau kelompok sehat adalah jumlah rerata limfosit pada kelompok K5. Hal ini membuktikan bahwa pemberian kombinasi *nystatin* secara topikal sebanyak 0,5 cc 1x sehari dengan terapi oksigen hiperbarik yang diberikan pada tekanan 2,4 ATA 3x30 menit sehari selama 5 hari efektif dalam meningkatkan jumlah sel limfosit.

Nystatin bekerja dengan mengikat ergosterol dan membentuk *barrel-like*, saluran membran di membran plasma organisme sensitif antibiotik. Peningkatan permeabilitas sel jamur menyebabkan kebocoran molekul dan gangguan komponen elektrokimia seluler sehingga mengakibatkan kematian sel jamur. Selain itu, *nystatin* dapat menyerap kolesterol yang terletak di membran plasma sel eukariotik dan mengubah struktur mikro *lipid-rafts*, yang telah terbukti memainkan peran penting dalam mengatur respon imun *innate* dan adaptif melalui pengenalan patogen, aktivasi limfosit, dan sinyaling sitokin.¹⁷ *Nystatin* dapat meningkatkan ekspresi dari *Major Histocompatibility Complex* (MHC) sel dendritik yang berasal dari sumsum tulang dan akan memicu produksi IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , dan makrofag sehingga kemampuan fagositosis meningkat.¹⁸ Sedangkan dengan pemaparan oksigen bertekanan tinggi melalui terapi oksigen hiperbarik, dapat meningkatkan IFN- γ , i-NOS, dan VEGF. IFN- γ menyebabkan TH-1 meningkat yang berpengaruh pada

peningkatan sel limfosit B.³ Dengan meningkatnya sel limfosit, maka antibodi sebagai pertahanan tubuh terhadap jamur juga akan meningkat.^{19,20}

Limfosit berperan sebagai pertahanan utama *host* dalam melawan infeksi jamur pada permukaan mukosa dan epidermis. Perlekatan limfosit terhadap jamur merupakan langkah awal dalam pembentukan efek antijamur yang dimediasi oleh sel limfosit terhadap *Candida albicans*. Selama terjadi respon imunitas yang dimediasi sel, limfosit akan mengeluarkan sitokin yang tidak hanya meningkatkan respon imunitas sel, tetapi juga memodulasi aktivitas antifungi oleh leukosit polimorfonuklear dan makrofag. Sel NK dan *interleukin-2 activated lymphocytes* (IAL) juga telah menunjukkan interaksi secara langsung dalam menghambat pertumbuhan jamur.⁸ Pada penelitian ini, kelompok yang diberikan *nystatin* topikal kombinasi terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA selama 5 hari memiliki efek yang signifikan dalam meningkatkan jumlah limfosit, sehingga pemberian kombinasi ini diharapkan dapat menjadi salah satu terapi dalam mempercepat penyembuhan kandidiasis oral.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi *nystatin* topikal dan terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA yang diberikan selama 5 hari berpengaruh terhadap peningkatan jumlah limfosit pada tikus model kandidiasis oral imunosupresi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hakim L, Ramadhian MR. Kandidiasis Oral. Jurnal Majority. 2015; 4(8): 53-54.
2. Fitriasari N, Wahyuni IS. Potensi Probiotik Dalam Tatalaksana Oral Kandidiasis: Ulasan Sistematis. Odonto Dental Journal. 2021; 8 (1): 34-44.
3. Walangare T, Hidayat T, Basuki S. Profil Spesies *Candida* pada Pasien Kandidiasis Oral dengan Infeksi HIV & AIDS. Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin. 2014; 26(1): 29–35.
4. Puspitasari A, Kawilarang AP, Ervianti E, Rohiman A. Profil Pasien Baru Kandidiasis. Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin–Periodical of Dermatology and Venereology. 2019; 31(1): 24-34.
5. Nur'aeny N, Hidayat W, Dewi TS, Herawati E, Wahyuni IS. Profil Oral Kandidiasis di Bagian Ilmu Penyakit Mulut RSHS Bandung Periode 2010-2014. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia. 2017; 3(1): 23-28.
6. Erfaninejad M, Mahmoudabadi AZ, Maraghi, Hashemzadeh M, Fatahinia M. Epidemiology, Prevalence, And Associated Factors Of Oral Candidiasis in HIV Patients From Southwest Iran in Post-Highly Active Antiretroviral Therapy Era. Front Microbiol. 2022; 13: 983348
7. Pargaputri AF, Andriani D. Pengaruh Pemberian Terapi Oksigen Hiperbarik Terhadap Jumlah Limfosit Darah pada Kandidiasis Oral Imunosupresi. Jurnal Denta. 2018; 12(2): 118.
8. Diehl R. Immunosuppression for In Vivo Research: State of The Art Protocols and Experimental Approaches. Cellular and Molecular Immunology. 2017; (14): 146-179.
9. Forsyth CB, Mathews HL. Lymphocyte Adhesion to *Candida Albicans*. Infection and Immunity. 2002;70(2): 517-527.
10. Kurniawati A, Mashartini A, Fauzia IS. Perbedaan khasiat anti jamur antara ekstrak etanol daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan Nistatin terhadap Pertumbuhan

- Candida albicans. Jurnal Mikologi Indonesia. 2016; 65(3): 74-77.
11. Wibowo A. Oksigen Hiperbarik: Terapi Percepatan Penyembuhan Luka. Jurnal Kesehatan Unila. 2015; 5(9): 126-128.
 12. Sujatha RS, Rakesh N, Deepa J, Ashish L, Shridevi B. Rhino Cerebral Mucormycosis. J Clin Exp Dent. 2011; 3(3): 256-60.
 13. Mengji AK, Yaga US, Gollamudi N, Prakash B, Rajashekar E. Mucormycosis in a Surgical Defect Masquerading as Osteomyelitis. The Pan African Medical Journal. 2016; 23(16).
 14. Pargaputri AF, Andriani D. Serum Albumin Levels of Oral Candidiasis Immunosuppressed Rats Treated with Hyperbaric Oxygen. International Journal of Integrated Health Sciences. 2020; 8(1): 8-13.
 15. Pargaputri AF, Andriani D, Hartono MR, Widowati K. Effect of Hyperbaric Oxygen Treatment on Liver Hepatocyte Damage in Oral Candidiasis Immunosuppressed Rats. Odonto Dental Journal. 2022; 9(2): 319-326.
 16. Prabhu RV. Management of HIV-related Kandidiasis Oral. Journal of HIV and Human Reproduction. 2013; 1(2): 47-53.
 17. Ferrer MD. Scuba Diving Enhance Endogenous Antioxidant Defenses in Lymphocyte and Neutrophils. Free Radical Research. 2007;41(3): 274-281.
 18. Zhang. *Nystatin* Enhances the Immune Response Against Candida Albicans and Protects the Ultrastructure of The Vaginal Epithelium in a Rat Model of Vulvovaginal Candidiasis. BMC Microbiology. 2018; (18): 166.
 19. Ogawa Y. Identification of Novel Pharmacological Activities of an Antifungal Agent, *Nystatin*, to Promote Dendritic Cell Maturation. Journal of Investigative dermatology. 2006;126: 349-353.
 20. Huda N. Pengaruh Hiperbarik Oksigen (HBO) terhadap perfusi luka gangren pada penderita DM di RSAL Dr. Ramelan Surabaya (thesis). Jakarta: Fakultas Ilmu Keperawatan Universitas Indonesia; 2010. P.8-105.