

TESIS

**INTERAKSI *Candida albicans* DAN BAKTERI BATANG
GRAM NEGATIF (*Pseudomonas aeruginosa* dan
Acinetobacter baumannii) PADA
PEMBENTUKAN BIOFILM**



RAHMI DIANTY

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**INTERAKSI *Candida albicans* DAN BAKTERI BATANG
GRAM NEGATIF (*Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter
baumannii*) PADA PEMBENTUKAN BIOFILM**

RAHMI DIANTY
NIM. 011718226304

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

**INTERAKSI *Candida albicans* DAN BAKTERI BATANG
GRAM NEGATIF (*Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter
baumannii*) PADA PEMBENTUKAN BIOFILM**

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister pada Program Pascasarjana
Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga**

Oleh:

**RAHMI DIANTY
NIM. 011718226304**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA, AGUSTUS 2020**

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dari semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar. Bagian atau keseluruhan isi Tesis ini tidak pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik pada bidang studi dan/ atau universitas lain dan tidak pernah dipublikasikan/ ditulis oleh individu selain penyusun kecuali bila dituliskan dengan format kutipan dalam isi Tesis.

Apabila ditemukan bukti pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 19 Agustus 2020



(Rahmi Dianty, dr)

NIM. 011718226304

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENELITIAN TESIS INI TELAH DISETUJUI DAN DISAHKAN
PADA TANGGAL 24 Agustus 2020**

Oleh:

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., M. S., Sp. MK (K)
NIP. 19510221 197802 1 001

Pembimbing



Arthur Pohan Kawilarang, dr. M. Kes. Sp. MK (K)
NIP. 19601121 198803 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik



Dr. dr. Aditiawarman, Sp. OG. (K)
NIP. 19581101 198610 1 002

HALAMAN PENGESAHAN PANITIA PENGUJI TESIS

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Rahmi Dianty, dr

NIM : 011718226304

Program Studi : Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Fakultas Kedokteran

Judul : Interaksi *Candida albicans* dan Bakteri Batang Gram Negatif
(*Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter baumannii*) pada
Pembentukan Biofilm

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji

Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Pada tanggal 27 Agustus 2020

Panitia penguji:

Ketua Penguji : Dr. Eko Budi Koendhori, dr., M. Kes., Sp. MK

- Anggota : 1. Prof. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., M. S., Sp. MK (K)
2. Arthur Pohan Kawilarang, dr. M.Kes., Sp. MK (K)
3. Lindawati Alimsardjono, dr., M.Kes., Sp. MK (K)
4. Budiono, dr., M. Kes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT menganugerahkan penulis dapat menyelesaikan karya akhir berjudul “Interaksi *Candida albicans* dan Bakteri Batang Gram Negatif (*Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter baumannii*) pada Pembentukan Biofilm.”

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada Prof. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., Sp.MK(K) selaku pembimbing utama, yang telah meluangkan waktu, memberikan perhatian, bimbingan dan arahan serta motivasi dalam setiap konsultasi dan selama penulis menempuh pendidikan Magister Kedokteran Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Arthur Pohan Kawilarang, dr. M. Kes. Sp. MK (K) selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan dan nasehat dalam setiap konsultasi serta memberikan kesempatan, izin dan fasilitas kepada penulis selama pendidikan, proses penelitian dan penyelesaian tesis ini.

Dr. Eko Budi Koendhori, dr., M. Kes., Sp. MK dan Lindawati Alimsardjono, dr. MKes., Sp.MK(K) selaku penguji yang dengan penuh kesabaran memberi bimbingan, nasihat, arahan dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan Mikrobiologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Budiono, dr.,M.Kes yang telah memberikan saran dan ilmu pengetahuan demi perbaikan.

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Rektor Universitas Airlangga Surabaya, Prof. Dr. Mohammad Nasih, MT., SE., Ak., CMA., atas kesempatan dan kelancaran administrasi yang diberikan kepada penulis untuk

menempuh dan menyelesaikan Magister Kedokteran Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Sutoyo, dr., Sp.U(K), yang memberikan kesempatan beserta fasilitas kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan Magister Kedokteran Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K) dan segenap jajarannya atas segala sarana, prasarana dan izin selama menempuh pendidikan Magister Kedokteran Klinik. Para dosen dan staf pengajar Magister Kedokteran Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, atas bimbingan dan ilmu pengetahuan yang diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan.

Ucapan terima kasih tak terhingga juga penulis sampaikan kepada Ayahanda tercinta Dr. Aswandi, M. Pd. dan Ibunda tercinta Rusnawaty yang telah membesarkan dan selalu memberi dukungan penuh serta doa yang tiada putus-putusnya selama menyelesaikan pendidikan ini. Kakak tercinta, Lukmanulhakim, S.T., M. Pd dan istri, Ira Safitri, S.E. serta adik tersayang, Rahmad Ramadhani, S. Ked. yang memberikan segenap dukungan materiil dan non materiil, doa dan motivasi kepada penulis. Keponakan tercinta Nafisha Maiza Almaira dan Asheeqa Almaira yang selalu memberi semangat dan inspirasi, serta kepada keluarga besar penulis yang telah memberi dorongan, semangat dan doa bagi kelancaran pendidikan penulis.

Teman-teman seangkatan dr. Sukinto, dr. Amina Thayyiba, dr. Encu Sukandi, dr. Saidatul Hayati dan dr. Cherry Siregar, M.Kes., M.Ked.Klin., Sp.MK merupakan teman disaat susah dan senang, memberi semangat dan dorongan untuk menyelesaikan pendidikan bersama-sama. serta kakak senior maupun adik-adik PPDS yang telah membantu penyusunan tesis, maupun selama menempuh pendidikan.

Teruntuk analis mikrobiologi klinik RSUD Dr Soetomo dan RS Khusus Infeksi yang telah banyak membantu dan membimbing penulis dalam mengerjakan penelitian. Kepada seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang tanpa bantuan mereka, penelitian ini tidak akan berjalan dengan baik.

Akhir kata, saya menyampaikan permohonan maaf yang sebesar-besarnya kepada semua pihak atas segala sesuatu yang kurang berkenan selama saya menempuh pendidikan Magister Kedokteran Klinik. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat, karunia dan hidayah-Nya bagi kita semua.

Surabaya, 19 Agustus 2020

Penulis

RINGKASAN

**Interaksi *Candida Albicans* dan Bakteri Batang Gram Negatif
(*Pseudomonas aeruginosa* Dan *Acinetobacter baumannii*)
pada Pembentukan Biofilm**

Rahmi Dianty

Bakteri batang Gram negatif merupakan penyebab utama penyakit infeksi di rumah sakit (Agarwal *et al.*, 2018). Infeksi oleh *multi-drug resistant* (MDR) bakteri batang Gram negatif secara signifikan meningkatkan angka morbiditas (Nelson *et al.*, 2017; Hager *et al.*, 2019). Pasien dengan keadaan immunosupresan di rumah sakit juga berisiko tinggi terinfeksi jamur. Adanya koinfeksi jamur dan bakteri menyebabkan peningkatan angka mortalitas. *Candida albicans* dapat membentuk biofilm, begitu juga berbagai spesies bakteri Gram negatif (Cepas *et al.*, 2019; Morse *et al.*, 2019; Pathirana *et al.*, 2019). Terjadinya koinfeksi *inter-kingdom* berdampak pada pembentukan biofilm baik bersifat sinergis maupun antagonis (Dharmayage *et al.*, 2016; Boer, 2017; Lohse *et al.*, 2018).

Candida albicans ATCC 14053 dan isolat klinis bakteri batang Gram negatif yang digunakan dalam penelitian ini merupakan isolat tersimpan Unit Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Isolat klinis bakteri batang Gram negatif (*P. aeruginosa* dan *A. baumannii*) terdiri atas dua karakteristik; pembentuk biofilm dan bukan pembentuk biofilm.

Hasil uji pendahuluan mendapatkan isolat *P. aeruginosa* pembentuk biofilm (3,468), isolat *P. aeruginosa* bukan pembentuk biofilm (0,374), isolat *A. baumannii* pembentuk biofilm (2,556) dan isolat *A. baumannii* bukan pembentuk biofilm (0,347). Isolat *C. albicans* dibuat suspensi 1×10^6 CFU/mL, sedangkan suspensi bakteri Gram negatif 1×10^7 . Suspensi *C. albicans* dicampur dengan suspensi bakteri Gram negatif dengan rasio 1:1. Kemampuan isolat satu spesies dan *mixed species*, pembentukan biofilm dengan metode *Microtiter Plate Assay* diamati menggunakan *ELISA reader* yang dinyatakan dalam nilai *optical density* (OD) pada $\lambda=595$ nm.

Hasil uji statistik pembentukan biofilm antara *C. albicans*, *P. aeruginosa* pembentuk biofilm dan campuran keduanya menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai p sebesar 0.000 ($p < 0.05$). Berdasarkan uji LSD diperoleh hasil bahwa kelompok *C. albicans* dan *P. aeruginosa* BF memiliki perbedaan nilai OD yang bermakna ($p=0,000$). Kelompok *C. albicans* dan campuran *C. albicans* dan *P. aeruginosa* pembentuk biofilm terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,000$).

Hasil uji Kruskal-Wallis *C. albicans* dan *P. aeruginosa* bukan pembentuk biofilm menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara ketiga kelompok uji dengan nilai p sebesar 0.003 ($p < 0.05$). Uji Post hoc Mann-Whitney antara *C. albicans* dengan *P. aeruginosa* bukan pembentuk biofilm dan antara *C. albicans* dengan campuran *C. albicans* dan *P. aeruginosa* bukan pembentuk menunjukkan terdapat perbedaan bermakna dengan nilai $p < 0,05$. Sedangkan hasil antara *P.*

aeruginosa dan campuran *C. albicans* dan *P. aeruginosa* bukan pembentuk biofilm tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai p sebesar 0,337 ($p > 0,05$).

Hasil uji Kruskal-Wallis menggunakan *C. albicans* dan *A. baumannii* pembentuk biofilm menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai p sebesar 0,001 ($p < 0,05$). Sehingga dapat dilanjutkan dengan *Post hoc* Mann-Whitney yang menunjukkan hasil perbedaan yang bermakna antar kelompok uji. *Optical density* pada *C. albicans* dan *A. baumannii* bukan pembentuk biofilm dianalisis dengan ANOVA dengan nilai p sebesar 0,030 ($p < 0,05$). Hasil uji *Post hoc* LSD menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok *C. albicans* dengan *A. baumannii* bukan pembentuk biofilm ($p = 0,036$) dan *A. baumannii* dengan campuran *C. albicans* dan *A. baumannii* bukan pembentuk biofilm ($p = 0,013$). Namun tidak untuk *C. albicans* dan *C. albicans* + *A. baumannii* bukan pembentuk biofilm ($p = 0,630$).

Selain itu, telah dilakukan analisis pembentukan biofilm antara *C. albicans* dengan masing-masing empat isolat klinik tersebut. Rerata tertinggi pada *C. albicans* + *A. baumannii* pembentuk biofilm dan rerata terendah pada *C. albicans* + *P. aeruginosa* pembentuk biofilm. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,05$).

SUMMARY

INTERACTION OF *Candida albicans* AND GRAM-NEGATIVE ROD BACTERIA (*Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*) ON BIOFILM FORMATION

Rahmi Dianty

Gram-negative rod bacteria are the important pathogen which cause Hospital associated Infection (HAIs) (Agarwal *et al.*, 2018). Multi-drug resistant-Gram negative rod bacteria are significantly increase the morbidity rate (Nelson *et al.*, 2017; Hager *et al.*, 2019). Immunosuppressive patient who admitted in the hospital has high risk obtained fungal infection. Co-infection fungi and bacteria cause increasing mortality rates. *Candida albicans* are biofilm forming microbe, so are various species of Gram-negative rod bacteria (Cepas *et al.*, 2019; Morse *et al.*, 2019; Pathirana *et al.*, 2019). Effect of inter-kingdom infection enhance biofilm formation both synergistic and antagonistic (Dhamyage *et al.*, 2016; Boer, 2017; Lohse *et al.*, 2018).

C. albicans ATCC 14053 and the clinical isolates of Gram-negative rod bacteria used in this study were stored from the Clinical Microbiology Laboratory of Dr. Soetomo Surabaya which is consist of two characteristics of bacteria; biofilm forming and non-biofilm forming.

The preliminary optical density test results showed that biofilm forming *P. aeruginosa* isolate (3,468), non-biofilm forming *P. aeruginosa* isolate (0.374), biofilm forming *A. baumannii* isolate (2.556) and non-biofilm forming *A. baumannii* isolate (0.347). *C. albicans* isolate was made with a 1×10^6 CFU / mL suspension, while the Gram-negative bacteria suspension was 1×10^7 . *C. albicans* suspension was mixed with Gram negative rod bacterial suspension in a 1:1 ratio. The ability of single species and mixed species isolates, biofilm formation using the Microtiter Plate Assay method was observed using an ELISA reader which was expressed in optical density (OD) values at $\lambda = 595$ nm.

The statistical test results of biofilm formation between *C. albicans*, *P. aeruginosa* and mixed species showed a significant difference, $p=0.000$ ($p < 0.05$). Based on the LSD test, the results showed that *C. albicans* and biofilm forming *P. aeruginosa* groups had significant differences in OD values ($p = 0.000$). There was a significant difference between *C. albicans* and *C. albicans* + biofilm forming *P. aeruginosa* ($p = 0.000$).

The Kruskal-Wallis test results of *C. albicans* and non-biofilm forming *P. aeruginosa* showed that there was a significant difference between the three test groups with a p value of 0.003 ($p < 0.05$). Post hoc Mann-Whitney test between *C. albicans* and non-biofilm forming *P. aeruginosa* and between *C. albicans* and a mixture of *C. albicans* + non-biofilm forming *P. aeruginosa* showed a significant difference with p value < 0.05 . While the results between *P. aeruginosa* and *C. albicans* + non-biofilm forming *P. aeruginosa* did not show a significant difference with a p value of 0.337 ($p > 0.05$).

The statistics analysis, *C. albicans* and biofilm forming *A. baumannii* which form biofilms showed that there was a significant difference with a p value of 0.001 ($p < 0.05$). The Post hoc Mann-Whitney which shows the results of significant differences between the test groups. Optical density on *C. albicans* and *A. baumannii* which did not form biofilm was analyzed by ANOVA with a p value of 0.030 ($p < 0.05$). Post hoc LSD test results showed a significant difference between *C. albicans* and non-biofilm forming *A. baumannii* ($p = 0.036$) and *A. baumannii* with *C. albicans* + non-biofilm forming *A. baumannii* ($p = 0.013$). However, *C. albicans* and *C. albicans* + non-biofilm forming *A. baumannii* ($p = 0.630$).

In addition, an analysis of biofilm formation between *C. albicans* and each of the four clinical isolates was carried out. The highest mean was in *C. albicans* + biofilm forming *A. baumannii* and the lowest was in *C. albicans* + biofilm forming *P. aeruginosa*. The Kruskal-Wallis test results showed a significant difference with p value of 0.000 ($p < 0.05$).