

RINGKASAN

Penentuan Profil Protein Spesifik Biofilm *Candida albicans*

Noer Kumala Indahsari

Biofilm merupakan bentuk patogen *C. albicans* yang terjadi sebagai akibat pengaruh lingkungan seperti sistem imun inang. Dalam bentuk biofilm, *C. albicans* telah dilaporkan menyebabkan berbagai penyakit degeneratif meliputi Alzheimer (Moir, *et al.*, 2010), diabetes mellitus (Tsang, *et al.*, 2007), Autis dan autistic Spectrum Disorder (Kogan *et al.*, 2009), Parkinson's disease (Mravec *et al.*, 2006), dan Scizophrenia (Winter *et al.*, 2006).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan profil protein spesifik biofilm *C. albicans*, yang meliputi: protein matriks spesifik biofilm *C. albicans* dan protein intrasel spesifik biofilm *C. albicans* dalam ekstrak protein yang didapat dengan melalui ekstraksi biofilm *C. albicans* dengan perlakuan β -merkaptotanol dan *zymolyase*®.

Profil protein spesifik biofilm *C. albicans* diidentifikasi dengan metode analisis proteomik. Biofilm dibuat dengan cara menumbuhkan sel *C. albicans* pada membran filter selulosa nitrat yang diletakkan di atas media SDA (*sabaroud dextrose agar*), dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Asosiasi yang kuat pada struktur biofilm *C. albicans*, menjadikan pekerjaan untuk melepaskan protein-protein baik pada matriks biofilm *C. albicans* maupun protein intrasel spesifik biofilm *C. albicans* tidak mudah. Pelepasan protein dari struktur kompleks biofilm yang asosiasinya sangat kuat, dilakukan dengan metode ekstraksi dua tahap. Tahap pertama menggunakan β -merkaptotanol, yang dilanjutkan dengan metode enzimatik *Zymolyase*®. Pada tahap tersebut didapat protein penyusun matriks biofilm dan dinding sel. Adapun protein intrasel biofilm diperoleh pada tahap kedua yaitu dengan cara lisis sel dari residu tahap sebelumnya. Ekstrak protein yang diperoleh, ditentukan profil proteinnya melalui metode SDS-PAGE dengan akrilamid 12% menggunakan pewarnaan silver.

Biofilm yang terbentuk dianalisis secara kualitatif melalui pengamatan makroskopis secara visual dan SEM (*scanning electron microscope*). Secara visual bentuk biofilm yang tumbuh pada membran filter selulosa nitrat dapat diamati seperti lapisan yang memadat dan menebal yang menempel pada membran filter selulosa nitrat, dan berwarna putih keruh. Analisis menggunakan SEM menunjukkan bahwa biofilm yang diperoleh pada penelitian ini tersusun atas lapisan tebal sel khamir, *germ tube*, dan hifa yang dilapisi oleh matriks ekstraseluler. Berdasarkan analisis proteomik menggunakan SDS-PAGE, dapat diperoleh profil protein matriks biofilm *C. albicans* (BM 61,56, 38,83 dan 35,58 kDa) dan protein intrasel biofilm *C. albicans* (BM 116,39, 94,96, 84,25, 77,11, 69,96, 48,54, 41,39, 23,53 dan 16,39 kDa) dalam ekstrak protein yang didapat dengan melalui ekstraksi biofilm *C. albicans*.

Protein spesifik matriks biofilm *C. albicans* yang diperoleh, yaitu protein dengan BM: 61,56 dan 38,83 kDa. Pita protein dengan BM 35,85 kDa bukan protein spesifik matriks biofilm karena ternyata juga muncul pada protein ekstrasel pada sel

planktonik *C. albicans*. Demikian pula dapat ditentukan protein intrasel spesifik biofilm *C. albicans* dengan perkiraan BM: 116,39, 94,96, 77,11, 69,96, 48,54 dan 23,53 kDa. Pita protein pada BM 84,25, 41,39 dan 16,39 kDa bukan protein intrasel spesifik biofilm, karena ternyata juga muncul pada pita protein intrasel pada sel planktonik *C. albicans*.

Dengan menggunakan metode ekstraksi β -merkaptotanol dan Zymolyase®, maka dapat diperoleh profil protein spesifik biofilm *C. albicans*, yang meliputi: protein matriks biofilm dengan BM: 38,83 dan 61,56 kDa serta protein intrasel dengan BM: 23,53, 48,54, 69,96, 77,11, 94,96 dan 116,39 kDa. Pada penelitian selanjutnya, perlu dikarakterisasi jenis protein sehingga dapat dikembangkan sebagai target obat pada penyakit degeneratif.

SUMMARY

Specific Protein Profiling of *Candida albicans* Biofilms

Biofilm is a pathogenic form of *C. albicans* that occurs as a result of environmental influences such as host immune system. In the form of biofilms, *C. albicans* has been reported to cause various degenerative diseases including Alzheimer's disease (Moir et al., 2010), diabetes mellitus (Tsang, et al., 2007), Autism and autistic spectrum Disorder (Kogan et al., 2009), Parkinson's disease (Mravec et al., 2006), and Schizophrenia (Winter et al., 2006).

The purpose of this study was to determine the specific protein profiles of biofilms *C. albicans*, which include biofilm-specific matrix protein *C. albicans* biofilms and specific intracellular protein *C. albicans* in protein extracts obtained through extraction of biofilms *C. albicans* by treatment with β -merkaptoetanol and zymolyase®.

Specific protein profiles of biofilms *C. albicans* identified by proteomics analysis method. Biofilms are made by growing the cells *C. albicans* on cellulose nitrate membrane filters placed on the SDA medium, and incubated at 37 ° C for 48 hours. Strong association in the biofilm structure *C. albicans*, making the job to release the proteins in both the biofilm matrix of *C. albicans* biofilms as well as specific intracellular protein *C. albicans* is not easy. The release of proteins from the complex structure of biofilm association is very strong, made with two-phase extraction method. The first stage of using β -merkaptoetanol, followed by enzymatic methods Zymolyase ®. At this stage obtained the biofilm matrix constituent and the cell wall protein. The intracellular proteins of biofilm obtained at the second stage by means of cell lysis residues earlier stage. The protein profile determined from protein extracts obtained, by the method of SDS-PAGE acrylamid 12% using silver staining.

Biofilms that formed were analyzed qualitatively through visual observation of macroscopic and SEM (Scanning Electron Microscope). Visually form biofilms that grow on cellulose nitrate membrane filters can be observed as a solidified and thickened layer attached to the cellulose nitrate membrane filters, white and cloudy. Analysis using SEM showed that the biofilm obtained in this study consists of a thick layer of yeast cells, germ tubes and hyphae are coated by extracellular matrix. Based on proteomics analysis using SDS-PAGE, can be obtained protein profiles of biofilm matrix *C. albicans* (MW 61.56, 38.83 and 35.58 kDa) and intracellular protein biofilm *C. albicans* (MW 116.39, 94.96, 84.25, 77.11, 69.96, 48.54, 41.39, 23.53 and 16.39 kDa) in protein extracts obtained through extraction of biofilms *C. albicans*.

Specific protein biofilm matrix *C. albicans* obtained, the protein molecular weight: 61.56 and 38.83 kDa. Band with 35.85 kDa is not protein specific proteins the biofilm matrix because it also appears on the extracellular proteins in planktonic cell *C. albicans*. Similarly, specific intracellular proteins can be determined biofilm: *C. albicans* with an estimated MW: 116.39, 94.96, 77.11, 69.96, 48.54 and 23.53 kDa. Bands with 84.25, 41.39 dan 16, 39 kDa is not protein specific intracellular biofilms, because it also appears on intracellular protein bands on planktonic cells *C.*

albicans.

It can be concluded that by using the standard method of extraction and β -Merkaptoetanol Zymolyase ®, the specific protein profiles can be determined from the biofilm intact biofilms, which include: specific protein profiles of biofilm matrix of *C. albicans* with MW as follows: 38.83 and 61.56 kDa as well as protein profile of specific intracellular *C. albicans* biofilm with MW are: 23.53, 48.54, 69.96, 77.11, 94.96 dan 116, 39 kDa. Then, as characterized types of protein can be developed as a drug target in degenerative diseases.

ABSTRAK**PENENTUAN PROFIL PROTEIN SPESIFIK BIOFILM *Candida albicans*****NOER KUMALA INDAHSAARI**

Candida albicans yang merupakan flora normal terutama pada saluran pencernaan, selaput mukosa pada saluran pernafasan dan vagina, dapat berubah menjadi *overgrowth* akibat kondisi lingkungan, misal pemakaian antibiotika jangka panjang dan cemaran logam berat. Pembentukan biofilm *C. albicans* akan terjadi sebagai sistem pertahanan diri dari kondisi lingkungan yang menekan, misal sistem imun inang. Dalam bentuk biofilm, *C. albicans* bersifat patogen, dan telah dilaporkan menyebabkan penyakit degeneratif antara lain Alzheimer, Diabetes, Autis, Schizoprenia, Parkinsons dan lain sebagainya. Penelitian bertujuan mengidentifikasi profil protein spesifik biofilm *C. albicans* dengan metode analisis proteomik. Protein spesifik biofilm yang diperoleh, dapat diteliti lebih lanjut sebagai target obat untuk mengobati penyakit-penyakit degeneratif terkait. Asosiasi yang kuat pada struktur biofilm *C. albicans*, menjadikan pekerjaan untuk melepaskan protein-protein baik pada matriks biofilm *C. albicans* maupun protein intrasel spesifik biofilm *C. albicans* tidak mudah. Pelepasan protein dari struktur kompleks biofilm yang asosiasinya sangat kuat, dilakukan dengan metode ekstraksi dua tahap. Tahap pertama menggunakan β -merkaptotanol, yang dilanjutkan dengan metode enzimatis dengan *Zymolyase*®. Pada tahap tersebut didapat protein penyusun matriks biofilm dan dinding sel. Adapun protein intrasel biofilm diperoleh pada tahap kedua yaitu dengan cara lisis sel dari residu tahap sebelumnya. Ekstrak protein yang diperoleh, ditentukan profil proteinnnya melalui metode SDS-PAGE dengan menggunakan pewarnaan silver. Profil protein spesifik biofilm *C. albicans* yang berhasil diidentifikasi meliputi protein matriks (38,83 dan 61,56 kDa) dan protein intrasel spesifik biofilm *C. albicans* (23,53, 48,54, 69,96, 77,11, 94,96 dan 116,39 kDa).

Kata Kunci: *C. albicans*, protein biofilm, β -merkaptotanol, *Zymolyase*®, SDS-PAGE

ABSTRACT
Specific Protein Profiling of *Candida albicans* Biofilms

Noer kumala Indahsari

Candida albicans is a normal flora, especially in the gastrointestinal tract, mucous membranes of the respiratory tract and vagina, can turn into overgrowth due to environmental conditions, eg long-term use of antibiotics and heavy metal contamination. Biofilm formation of *C. albicans* will occur as a self defense system of pressing environmental conditions, eg the host immune system. In the form biofilms, *C. albicans* is the pathogen, and has been reported to cause diseases such as Alzheimer's, diabetes, autism, schizophrenia, Parkinsons and others. The research aims to identify the specific protein profiles of biofilms *C. albicans* by the methods of proteomics analysis. The specific protein of biofilms obtained, can be using as drug target candidate for degenerative diseases. Strong association in the biofilm *C. albicans* structure, making the job to release the proteins in both the biofilm matrix of *C. albicans* biofilms as well as specific intracellular protein *C. albicans* is not easy. The release of proteins from the complex structure of biofilm association is very strong, made with two-phase extraction method. The first stage of using β -merkaptotanol, followed by enzymatic methods *Zymolyase*®. At this stage obtained the biofilm matrix constituent and the cell wall protein. The intracellular proteins of biofilm obtained at the second stage by means of cell lysis residues earlier stage. The protein profile determined from protein extracts obtained, by the method of SDS-PAGE using silver staining. Specific protein profiles of biofilms *C. albicans* were identified include biofilm matrix proteins (38.83 and 61.56 kDa) and biofilm specific intracellular protein *C. albicans* (23.53, 48.54, 69.96, 77.11, 94.96 and 116.39 kDa).

Keywords: *C. albicans*, biofilms protein, β -merkaptotanol, *Zymolyase*®, SDS-PAGE