

BAB I

PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1.1 Latar belakang

Van Leuwenhoek menemukan biofilm pertama kali pada tahun 1674, pada saat mempelajari plak menggunakan mikroskop. Kemampuan suatu mikroorganisme untuk mempengaruhi lingkungannya tergantung pada kemampuannya untuk membentuk komunitas berbentuk ikatan koloni yang disebut biofilm. Biofilm didefinisikan oleh Donlan dan Costerto dalam Neilands, (2007) sebagai: mikroba yang berada dalam bentuk komunitas sel, yang dicirikan oleh sel yang menempel kuat pada substrat atau menempel satu sama lain yang dikelilingi oleh matriks senyawa polimer ekstraseluler yang dihasilkan, dan menunjukkan fenotif tingkat pertumbuhan dan ekspresi gen yang berbeda.

Biofilm berperan sebagai pelindung, sehingga mikroba yang membentuk biofilm menunjukkan resistensi terhadap antimikroba serta dapat menembus sistem kekebalan sel inang. Pertumbuhan biofilm seiring dengan bertambahnya infeksi klinis pada sel inang, sehingga biofilm menjadi salah satu faktor virulensi dan resistensi. Pembentukan biofilm dapat dipacu dengan keberadaan serum atau saliva dalam lingkungannya (Kusumaningtyas, 2005). Fenotip biofilm berbeda dari sel planktonik, perbedaan ini menyebabkan perbedaan manifestasi antara keduanya yang dapat menurunkan kerentanan mikroba biofilm terhadap agen anti mikroba. Pembentukan biofilm *C. albicans* dapat memicu timbulnya penyakit superfisial maupun sistemik, sedangkan *C. albicans* dalam bentuk sel planktonik menjadikan tidak patogen (Hoyer *et al.*, 2007).

Biofilm fungi berbeda dengan biofilm bakteri, khususnya pada *C. albicans* sebagai fungi dimorfik yang memiliki kemampuan untuk berubah dari bentuk khamir (*yeast*) menjadi bentuk hifa (filamen). Fakta ini memberikan kekhususan yang unik dan dapat menjadi ciri bagi keberadaan bentuk patogen atau bentuk biofilm *C. albicans* (Ribot *et al*, 2001). Dalam bentuk patogen, *C. albicans* lebih banyak ditemukan dalam bentuk filamen (pseudohifa atau miselium) dibandingkan bentuk spora. Bentuk miselium ini dapat menembus mukosa yang terdapat di dinding usus, mulut atau vagina, serta dapat melakukan invasi melalui sel-sel epitel di saluran cerna. Pada individu dengan gangguan sistem imun, invasi dapat berlanjut hingga masuk ke pembuluh darah (Kayser *et al*, 2005 dalam Riskillah, 2010). *Candida albicans* yang telah masuk dalam aliran darah dapat menyebar ke berbagai organ seperti ginjal, limpa, jantung, otak dan menimbulkan penyakit seperti endokarditis, meningitis, *endophtalmitis* dan *pielonefritis* (Kozik and Kozik, 2009). Setelah adesi berlanjut dengan invasi menembus sel epitel, *C. albicans* menghasilkan metabolit racun meliputi kandinoksin, etanol, asetaldehid, arabinosa dan asam-asam organik seperti asam-asam tartar (Clack, 2009). Penyebaran metabolit toksik melalui pembuluh darah (distribusi vaskular) dapat menimbulkan denaturasi protein inang secara langsung maupun melalui mutasi DNA. Denaturasi protein tersebut dapat menyebabkan penurunan fungsi jaringan maupun organ. Kelainan fungsi dilaporkan sebagai penyakit degeneratif meliputi Alzheimer (Moir *et al.*, 2010), diabetes mellitus (Tsang *et al.*, 2007), autisme dan autistic spectrum disorder (Kogan *et al.*, 2009), Parkinson's disease (Mravec and Epp 2006), dan Scizophrenia (Winter and Juckel, 2006).

Sebenarnya *C. albicans* merupakan flora normal terutama pada saluran pencernaan, selaput mukosa pada saluran pernafasan, vagina, uretra, kulit dan dibawah jari-jari kuku, tangan dan kaki. Namun akhir-akhir ini banyak dijumpai *C. albicans* menjadi *overgrowth* dan bentuk patogennya (Magdalena, 2009). *Candida albicans* yang merupakan agen patogen ini banyak menyebabkan infeksi oportunistik yang dinamakan kandidiasis (Martinez *et al.*, 1998). Apalagi dengan melemahnya mekanisme sistem imun inang dan kemampuan *C. albicans* untuk beradaptasi dengan lingkungan yang ada pada jaringan inang, membuat fungi ini berubah dari bentuk saprofit yang tidak patogen menjadi bentuk patogen yang agresif, sehingga dapat menyebabkan infeksi (Sentandreu *et al.*, 2005). Angka kejadian infeksi serius ini meningkat akibat peningkatan jumlah penderita *immunocompromised* (sebagai akibat dari peningkatan frekuensi infeksi HIV), penggunaan obat antimikroba, kemoterapi kanker dan penggunaan agen immunosupresif setelah transplantasi organ, serta peningkatan penggunaan perangkat medis implan, misalnya berdiamnya kateter vena (Xiaogang *et al.*, 2003).

Laporan lain menunjukkan bahwa fungi patogen ini berkaitan dengan pembentukan biofilm . Biofilm dianggap sebagai faktor virulensi potensial pada spesies *Candida*, yang menyebabkan kandidemia pada penderita yang menggunakan perangkat implan. Perangkat implan ini mendukung proses kolonisasi biofilm *Candida* (Gilmore *et al.*, 2008).

Pembentukan biofilm *Candida* membawa dampak klinis penting, karena sel *Candida* dalam biofilm mampu bertahan terhadap perlawanan reaksi imun inang. Keberadaan biofilm menyebabkan keefektifan terapi antifungal pada

kandidiasis invasif hanya mencapai 40% (de Groot *et al.*, 2009). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa biofilm *Candida* tahan terhadap antifungal amfoterisin B, flukonazol, flucytosine, itrakonazol, dan ketokonazol (Douglas and Al-Fatani, 2004). Fakta ini menunjukkan bahwa keberadaan biofilm *C.albicans* masih menjadi masalah serius yang membutuhkan penanganan dan penyelesaian yang optimal.

Penemuan biomarker deteksi dini terhadap pembentukan biofilm *Candida* sangat berguna karena selama ini diagnosis pada infeksi bentuk patogen sulit ditegakkan. Kesulitan diagnosis kandidiasis disebabkan oleh strategi tipu daya *Candida* melalui pembentukan biofilm. Ballal dan Vinitha, (2007) justru menggunakan tingkat produksi biofilm *C. albicans* sebagai alat identifikasi virulensinya yang terdapat dalam darah penderita yang di rawat di ICU. Deteksi virulensi biofilm melalui sampel darah hanya berguna pada pasien yang mengalami infeksi sistemik. Metode ini tidak dapat digunakan untuk deteksi pada infeksi dini / *superficial*. Hal ini karena keberadaan *C. albicans* dalam tubuh manusia pada umumnya sebagai flora normal.

Biomarker yang ditemukan Pitarch adalah profil proteomik dinding sel *C. albicans*. Pitarch *et al.* (2005) melaporkan biomarker identifikasi infeksi *C. albicans* non sistemik dan sistemik pada penderita *hematological malignancy, leukemia, lymphoma, solid tumor, pancreas/ colon adenocarcinoma, gastrointestinal pathology, nonmalignant diseases, bladder neoplasm*. Identifikasi profil proteomik spesifik biofilm biofilm sangat berguna untuk pengembangan target obat untuk desain antibiotika yang spesifik terhadap bentuk patogen *C. albicans*.

Penelitian tentang profil protein dinding sel pada sel planktonik telah banyak dilakukan, sedangkan profil protein biofilm belum dilaporkan. Profil proteomik sel planktonik juga dilaporkan oleh Sellam *et al.*, (2009). Profil sel planktonik yang bersifat antigenik juga telah dilaporkan oleh Pitarch *et al.*, (2005) dan Ana *et al.*, (2008). Oleh karena itu pada penelitian ini, identifikasi protein spesifik biofilm dipilih sebagai obyek kajian, untuk nantinya dikembangkan sebagai target obat. Hal ini karena protein berbasis biofilm bersifat spesifik/ khas untuk mikroorganisme tertentu (Ells, 2008).

Menurut Odds *et al.*, (2007) dan Chaffin (1997) menjelaskan bahwa dinding sel *C. albicans* terdiri atas lapisan dalam yang tersusun dari glukosa dan kitin serta lapisan luar yang berisi komponen mannoprotein, glukosa dan kitin merupakan kerangka yang kaku, sebagai tempat menempelnya sebagian besar mannoprotein. Hal ini menunjukkan kompleksitas asosiasi komponen protein. Struktur biofilm *C. albicans* yang lebih ulet dan kuat dari pada dinding sel, menjadikan upaya untuk melepaskan protein-protein dari biofilm *C. albicans* merupakan pekerjaan yang tidak mudah. Pada kajian ini hendak dicari protein spesifik berbasis biofilm dengan mengidentifikasi bahwa protein yang dikeluarkan ke medium ekstraseluler dengan ekstraksi protein matriks biofilm *C. albicans* dan protein intrasel biofilm *C. albicans* menggunakan β -merkaptotanol dan Zymolyase® adalah khas protein pembentuk biofilm *C. albicans* maupun protein yang terlibat dalam metabolisme pembentukan biofilm, dengan menggunakan metode analisis proteomik. Sehingga berbagai profil protein biofilm *C. albicans* yang didapatkan, diharapkan bisa digunakan sebagai kandidat

target obat yang dapat menghambat pembentukan biofilm pada *C.albicans* serta kandidat target obat kandidiasis pada penyakit degeneratif.

1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah diuraikan maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut.

1. Bagaimanakah profil protein matriks spesifik biofilm dalam ekstrak protein yang didapat dengan melalui ekstraksi biofilm *C. albicans* menggunakan β -merkaptotanol dan *Zymolyase*®?
2. Bagaimanakah profil protein intrasel spesifik biofilm dalam ekstrak protein yang didapat dengan melalui ekstraksi biofilm *C. albicans* menggunakan β -merkaptotanol dan *Zymolyase*®?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan umum

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan profil protein spesifik biofilm *C. albicans*.

1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus penelitian ini yaitu.

1. Menentukan profil protein matriks spesifik biofilm dalam ekstrak protein yang didapat dengan melalui ekstraksi biofilm *C. albicans* menggunakan β -merkaptotanol dan *Zymolyase*®?
2. Menentukan profil protein intrasel spesifik biofilm dalam ekstrak protein yang didapat dengan melalui ekstraksi biofilm *C. albicans* menggunakan β -merkaptotanol dan *Zymolyase*®?

1.4 Manfaat

Profil protein spesifik biofilm baik protein matriks biofilm maupun intrasel yang didapat dengan melalui ekstraksi biofilm *C. albicans* dengan perlakuan β -merkaptotanol dan *Zymolyase*® dan dari profil protein ini dapat digunakan untuk menentukan jenis protein spesifik, yang selanjutnya dapat dikembangkan sebagai target obat dan untuk mendesain small molekul obat kandidiasis pada penyakit degeneratif.