

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

*Candida* merupakan fungi dimorfik yang memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda, yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi bentuk blastospora dan sebagai kecambah yang akan membentuk hifa semu (Tjampakasari, 2006). *Candida* yang bersifat tidak patogen tidak dapat membentuk hifa sehingga disebut sebagai bentuk planktonik. Sedangkan *Candida* yang bersifat patogen dapat membentuk hifa sebagai alat invasi (Jackson, 1999).

Di era industri ini, *Candida* spp. yang sebenarnya merupakan flora normal saluran pencernaan berubah menjadi patogen potensial yaitu ketika terjadi disbiosis. Disbiosis adalah ketidakseimbangan mikroflora usus yang pada umumnya juga disertai dengan aktivitas flora usus yang merugikan. Sebagai mikroba eukaryot *Candida* lebih kuat terhadap keberadaan racun polutan dibandingkan mikroba saluran pencernaan yang lain. Dengan demikian, polutan yang masuk dalam saluran pencernaan akan mematikan mikroba prokaryot, sedangkan *Candida* tetap eksis dalam bentuk perindungannya, yakni bentuk biofilm. Ketika lingkungan membaik atau kadar racun menurun, *Candida* berubah wujud dari biofilm menjadi bentuk bebas atau planktonik, dengan pertumbuhan yang tidak terkendali (*overgrowth*) akibat steril dari mikroba prokaryot yang menjadi kompetitornya. Metabolit primer maupun sekunder yang dihasilkan oleh *Candida* spp. berbahaya untuk tubuh bila

terdapat dalam kadar tinggi, yakni saat terjadi pertumbuhan tanpa kendali (*overgrowth*). Metabolit toksik *Candida* spp. meliputi etanol, formaldehida, asetaldehida, D-arabinitol, dan asam-asam organik seperti asam tartart (Baktir *et al.*, 2013). Apabila *Candida albicans* telah membentuk biofilm, maka *Candida albicans* akan resisten terhadap antifungi (Zattira, 2013).

Ekstrak kelenjar saluran pencernaan (*digestive gland*) *Achatina fulica* memiliki campuran enzim karbohidrase antara lain enzim kitinase,  $\beta$ -1,3-glukanase,  $\beta$ -1,4-glukanhidrolase, xilanase, selulase, hemiselulase, amilase, maltase dan sukrase. Enzim kitinase mampu menghidrolisis kandungan kitin pada dinding sel dan biofilm *Candida*. Kandungan enzim lainnya dapat menghidrolisis penyusun biofilm yang cukup kompleks. Konsorsium enzim *Achatina fulica* (ekstrak enzim) telah terbukti potensial untuk mendegradasi polimer matriks ekstraseluler pada wujud biofilm *Candida* (Kamiliyah, 2011; Baktir *et al.*, 2012).

*Candida albicans* resisten terhadap berbagai jenis antijamur meliputi flukonazol, amfoterisin B, flusitosin, klorheksidin, itrakonazol, triazol, ketokonazol dan beberapa senyawa azol baru yaitu vorikonazol dan ravukonazol (Al-Fattani, 2004). Terapi antifungi tidak dapat membunuh *Candida albicans*, tetapi hanya menghalangi pertumbuhan *Candida albicans*. Infeksi berulang dapat diobati dengan penggunaan obat antifungi, tetapi resistensi terhadap antibiotik juga dapat terjadi. Hal ini karena adanya pelindung biofilm yang menghalangi penetrasi obat ke dalam sel. Menurut Nett *et al.* (2007),  $\beta$ -1,3-glukan berperan dalam penurunan penetrasi

antifungi ke dalam sitoplasma sel dan meningkatkan resistensi biofilm terhadap antifungi.

Walaupun banyak jenis obat antifungi sampai dengan generasi paling mutakhir tersedia di pasar, dalam pemakaiannya hanya dapat menurunkan populasi *Candida* spp. Sampai saat ini *Candida* spp. patogen belum pernah dapat diatasi. Di sisi lain *Candida* spp. dalam bentuk patogen perlu diterapi agar penyakit-penyakit terkait dapat disembuhkan tanpa kambuh kembali (*recurrent*) dan komplikasi (Baktir *et al.*, 2013).

Pada penelitian Kunsah (2012) melaporkan bahwa ligan Bgl2 (kanamisin) dan flukonazol dapat mengeradikasi biofilm *Candida albicans*. Flukonazol bekerja dengan cara menghambat sintesis ergosterol pada *Candida albicans*. Penghambatan sintesis ergosterol akan berujung pada kerusakan membran sel dan mengakibatkan kematian pada sel *Candida albicans*. Safinah (2011) melaporkan bahwa ligan Bgl2 (kanamisin) merupakan senyawa yang dapat menginhibisi protein Bgl2 sehingga pembentukan matriks ekstraseluler biofilm *Candida albicans* dapat dihambat. Protein Bgl2 pada biofilm *Candida albicans* adalah protein yang memiliki aktivitas enzim  $\beta$ -glukosintase yang mensintesis glukukan (Pitarch *et al.*, 2006). Glukan merupakan penyusun utama dinding sel dan matriks ekstraseluler biofilm *Candida albicans*. Keberadaan ligan Bgl2 (kanamisin) menyebabkan *Candida albicans* tidak mampu membentuk matriks ekstraseluler biofilm. Ekstrak enzim saluran pencernaan *Achatina fulica* yang mengandung kitinase dan glukukanase, dapat membantu kinerja flukonazol dan kanamisin dalam mengeradikasi biofilm *Candida albicans*.

Baktir *et al.* (2012) melaporkan bahwa paparan flukonazol justru mengakibatkan perkembangan biofilm patogen semakin meluas dan menebal karena *Candida albicans* dalam keadaan terancam sehingga *Candida albicans* yang masih hidup dalam bentuk planktonik akan ikut membentuk biofilm sebagai bentuk perlindungan. Namun apabila perlakuan flukonazol disertai dengan enzim yang menghidrolisis dan menekan pembentukan komponen matriks ekstra sel, biofilm hilang dari penampakan makroskopis. Hasil analisis hambatan pertumbuhan sel secara kuantitatif (analisis viabilitas) menunjukkan bahwa daya hambat flukonazol terhadap pertumbuhan *Candida albicans* sebesar 29,21% dan 17,5% pada paparan selama 3 dan 6 jam berturut-turut. Daya hambat gabungan flukonazol dan enzim sebesar 77,14% dan 75,67% pada paparan selama 3 dan 6 jam berturut-turut, sedangkan daya hambat gabungan flukonazol, enzim dan ligan (FEL) adalah 97,15% dan 97,21% pada paparan selama 3 dan 6 jam berturut-turut.

Enzim adalah biokatalisator yang aktivitasnya terhadap substrat dapat ditingkatkan dan diturunkan melalui keberadaan molekul efektor (aktivator dan inhibitor). Molekul efektor ini digunakan untuk meningkatkan kinerja gabungan FEL terhadap biofilm *Candida*, maka perlu dilakukan pengkajian untuk mengetahui aktivitas efektor dari flukonazol dan ligan Bgl2 (kanamisin). Serta pengkajian terhadap FEL sebagai inhibitor atau aktivator. Informasi ini perlu untuk mendesain pemakaian FEL sebagai kandidat obat antibiofilm *Candida*.

Kation logam juga bisa digunakan sebagai efektor enzim. (Noviendri *et al.*, 2008) melaporkan bahwa kation  $Mn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$ , dan

$\text{Na}^+$  dapat menurunkan aktivitas enzim kitinase dari isolat T5a1. Kation  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  dan  $\text{Zn}^{2+}$  dapat menurunkan aktivitas enzim kitinase dari *Pseudomonas aeruginosa* K-187 (Wang & Chang, 1997), kation  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ , dan  $\text{Hg}^+$  dapat menurunkan aktivitas enzim kitinase dari *Enterobacter* sp. NRG4 (Dahiya *et al.*, 2005),  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  dapat menurunkan aktivitas enzim kitinase dari *Vibrio* sp. 98CJ11027 (Park *et al.*, 2000) dan  $\text{Zn}^{2+}$  dapat menurunkan aktivitas enzim kitinase dari *Bacillus* K-129-14 (Rahayu *et al.*, 2004). Dari semua kation yang dapat menurunkan aktivitas enzim kitinase dari isolate T5a1, kation divalen  $\text{Co}^{2+}$  memiliki kemampuan tertinggi yaitu sampai dengan 54,07%. Untuk enzim kitinase dari isolat T5a1, penambahan 1,0 mM kation  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{3+}$  dapat meningkatkan aktivitas enzim kitinase masing-masing menjadi 120,32% dan 131,71%. Pada penelitian ini akan dilakukan uji sifat inhibisi flukonazol, kanamisin dan kation logam terhadap enzim  $\beta$ -1,3-glukanase dan kitinase pada *crude* enzim *Achatina fulica* untuk eradikasi antibiofilm *Candida albicans*.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut.

1. Bagaimanakah efek flukonazol terhadap aktivitas enzim kitinase dan  $\beta$ -1,3-glukanase dalam cairan kelenjar pencernaan *Achatina fulica*?
2. Bagaimanakah efek flukonazol dan ligan Bgl2 (kanamisin) terhadap aktivitas enzim kitinase dan  $\beta$ -1,3-glukanase dalam cairan kelenjar pencernaan *Achatina fulica*?

3. Bagaimanakah efek kation-kation logam  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{3+}$  terhadap enzim kitinase dan  $\beta$ -1,3-glukanase dari ekstrak cairan kelenjar pencernaan *Achatina fulica*?

### 1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menentukan efek flukonazol terhadap enzim kitinase dan  $\beta$ -1,3-glukanase dalam cairan kelenjar pencernaan *Achatina fulica*.
2. Menentukan efek flukonazol dan ligan Bgl2 (kanamisin) terhadap enzim kitinase dan  $\beta$ -1,3-glukanase dalam cairan kelenjar pencernaan *Achatina fulica*.
3. Menentukan efek kation-kation logam  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{3+}$  terhadap enzim kitinase dan  $\beta$ -1,3-glukanase dalam cairan kelenjar pencernaan *Achatina fulica*.

### 1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang penggunaan bersama antara flukonazol, ligan Bgl2 (kanamisin) dan ekstrak enzim kelenjar pencernaan *Achatina fulica* serta pengaruh penambahan kation logam pada ekstrak enzim kelenjar pencernaan *Achatina fulica* tidak menurunkan kinerja enzim dan mempunyai daya hambat yang tinggi terhadap pertumbuhan biofilm *Candida*

*albicans* serta dapat mengeradikasi *Candida albicans* sehingga dapat diaplikasikan untuk alternatif pengobatan kandidiasis.

