

**Glukosamin Sebagai Inhibitor Bgl2 dan Pengaruhnya dalam  
Eradikasi Biofilm *Candida albicans* Bersama Ekstrak Glukanase**

**SKRIPSI**



**HERA LISNA GINAWATI**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
2016**

**Glukosamin Sebagai Inhibitor Bgl2 dan Pengaruhnya dalam Eradikasi  
Biofilm *Candida albicans* Bersama Ekstrak Glukanase**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia  
pada Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Airlangga

Hera Lisna Ginawati  
081115075

Disetujui Oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II



Prof. Dr. Afaf Baktir. MS., Apt.  
NIP. 19561014 198303 2 001



Prof. Dr. Ni Nyoman Tri P., M.Si  
NIP. 19630615 1987 01 2 001

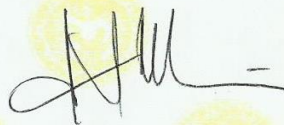
**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

Judul : Glukosamin Sebagai Inhibitor Bgl2 dan Pengaruhnya dalam Eradikasi Biofilm *Candida albicans* Bersama Ekstrak Glukanase  
Penyusun : Hera Lisna Ginawati  
NIM : 081115075  
Pembimbing I : Prof. Dr. Afaf Baktir, M.S., Apt.  
Pembimbing II : Prof. Dr. Ni Nyoman Tri P., M.Si  
Tanggal Ujian : 21 Januari 2016

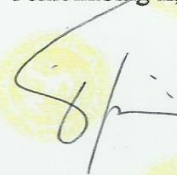
Disetujui Oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,

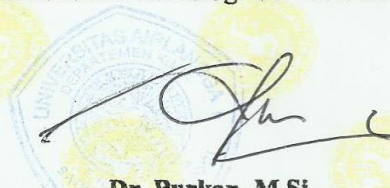


**Prof. Dr. Afaf Baktir, M.S., Apt.**  
NIP. 19561014 198303 2 001



**Prof. Dr. Ni Nyoman Tri P., M.Si**  
NIP. 19630615 1987 01 2 001

Mengetahui,  
Ketua Departemen Kimia  
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga



**Dr. Purkan, M.Si**  
NIP. 1972116 1997 02 1 001

## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai dengan kebiasaan ilmiah.

**Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.**



**SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINILITAS**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Hera Lisna Ginawati  
NIM : 081115075  
Program Studi : Kimia  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam skripsi saya yang berjudul :

**"Glukosamin Sebagai Inhibitor Bgl2 dan Pengaruhnya dalam Eradikasi Biofilm *Candida albicans* Bersama Ekstrak Glukanase"**

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah diterapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 29 Januari 2016



Hera Lisna Ginawati  
NIM. 081115075

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **”Glukosamin Sebagai Inhibitor Bgl2 dan Pengaruhnya dalam Eradikasi Biofilm *Candida albicans* Bersama Ekstrak Glukanase”**.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Afaf Baktir, M.S., Apt. selaku dosen pembimbing I dan Prof. Dr. Ni Nyoman Tri P., M.Si selaku dosen pembimbing II atas waktu, bimbingan dan nasehatnya selama penyusunan skripsi ini,
2. Dr. Pratiwi Pudjiastuti dan Abdulloh, S.Si.,M.Si selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dan masukan dalam perbaikan skripsi ini,
3. Dr. Pratiwi Pudjiastuti, M.Si. selaku dosen wali atas motivasi dan dukungan yang telah diberikan,
4. Dr. Purkan M. Si., selaku Ketua Departemen Kimia yang senantiasa memberikan dukungan,
5. Bapak dan ibu dosen Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga atas segala ilmu dan bimbingan yang telah diberikan,
6. Pengurus laboratorium, khususnya pak Damam atas dukungannya dalam berbagai pekerjaan di laboratorium
7. Mas Ridzky yang selalu membantu dan mendampingi selama melakukan penelitian di Rumah Sakit Khusus Infeksi (RSKI) UNAIR
8. Papa, mama, Ervin, Irham, yang selalu memberikan kasih sayang, doa yang tak pernah putus, semangat, dan motivasi selama penyelesaian skripsi,
9. Keluarga besar H. Didin Kamaludin dan H. Uju Abdullah yang selalu mendukung dan mendoakan
10. Teman-teman laboratorium biokimia, Anita, Dita, Marsha yang menemani selama perkuliahan hingga selesai
11. Sisil, Mbak Windy, Mbak Rany, Ovi dan Maheswari (Rizkita, Eki, Puteri dan Novinda) yang senantiasa mendukung dan memberikan semangat,
12. Teman-teman “Angkringan Vintage” Faris, Zuhri, Arief, Sis dan Habib yang selalu menemani, menghibur dan membantu dalam pengerjaan naskah skripsi.
13. Tama yang setia memberikan motivasi, doa, semangat dan kesabaran selama menyusun skripsi

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi

kesempurnaan skripsi. Semoga skripsi ini dapat memberikan pengetahuan baru tentang potensi glukosamin dan ekstrak glukonase untuk menjadi alternatif terapi kandidiasis dan bermanfaat bagi perkembangan ilmu biokimia.

Surabaya, Januari 2016  
Penyusun,

Hera Lisna Ginawati



**Ginawati, H.L., 2016, Glukosamin Sebagai Inhibitor Bgl2 dan Pengaruhnya pada Eradikasi Biofilm *Candida Albicans* Bersama Ekstrak Glukanase, skripsi, dibawah bimbingan Prof. Dr. Afaf Baktir, M.S., Apt. dan Prof. Dr. Ni Nyoman Tri P., M.Si, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya**

---

---

## ABSTRAK

*C. albicans* dalam bentuk biofilm resisten terhadap berbagai obat antifungi, termasuk flukonazol. Resistensi ini disebabkan oleh keberadaan matriks ekstraseluler yang melapisi membrane dan dinding sel *C. albicans*. Enzim Bgl2 berperan dalam mensintesis komponen matriks ekstraseluler, yaitu  $\beta$ -1,3-glukan. Penelitian ini bertujuan : 1) mempelajari penggunaan glukosamin sebagai senyawa inhibitor terhadap Bgl2, sehingga menghambat pembentukan matriks ekstraseluler; 2) peranan glukosamin, ekstrak glukanase dari *Achatina fulica* dalam meningkatkan kinerja flukonazol untuk eradikasi *C. albicans*. Penghambatan pertumbuhan matriks ekstraseluler biofilm dianalisis dengan kristal violet kemudian serapan diukur dengan *microtiter plate reader* pada  $\lambda$  595. Sedangkan penghambatan pertumbuhan sel hidup *C. albicans* diamati menggunakan analisis viabilitas sel yang dianalisis dengan *microtitre plate reader* pada  $\lambda$  490. Perlakuan dengan glukosamin dapat menghambat pembentukan matriks ekstraseluler *C. albicans* sebesar 83%. Perlakuan dengan campuran glukosamin dan ekstrak glukanase dari *Achatina fulica* hambatan menjadi 87% menunjukkan penambahan. Berdasarkan analisis viabilitas sel, ekstrak glukanase dan flukanazol dapat menghambat pertumbuhan sel *C. albicans* sebesar 34%. Perlakuan campuran glukosamin, flukonazol, dan ekstrak glukanase dapat meningkatkan daya hambatnya menjadi 67%.

**Kata kunci :** *C. albicans*, biofilm, glukosamin, ekstrak glukanase dari *Achatina fulica*, flukonazol, Bgl2,



**Ginawati, H.L., 2016, Glucosamine as Inhibitor Bgl2 and Its Effect to Eradicate Biofilm *C. albicans* with Glucanase Extract, undergraduate thesis, Prof. Dr. Afaf Baktir, M.S., Apt. dan Prof. Dr. Ni Nyoman Tri P, M.Si, Department of Chemistry, Science and Technology Faculty, Universitas Airlangga, Surabaya**

---

## ABSTRACT

*C. albicans* in the form of biofilm resistant to many antifungal drugs, including fluconazole. This resistance is caused by the presence of extracellular matrix coating the membrane and cell wall of *C. albicans*. Bgl2 enzyme plays a role in synthesizing extracellular matrix components, namely  $\beta$ -1,3-glucan. This study aims to: 1) study the use of glucosamine as an inhibitor compounds against Bgl2, thus inhibiting the formation of extracellular matrix; 2) the role of glucosamine, glucanase extract of *Achatina fulica* in improving the performance of fluconazole for eradication of *C. albicans*. Inhibition of the growth of the biofilm extracellular matrix were analyzed with crystal violet and then absorbance was measured with a microtiter plate reader at  $\lambda$  595. While the inhibition of the growth of living cells of *C. albicans* was observed using analysis of cell viability were analyzed with the microtiter plate reader at  $\lambda$  490. Treatment with glucosamine can inhibit the formation of extracellular matrix *C. albicans* by 83%. Treatment with a mixture of glucosamine and extract glucanase of *Achatina fulica* barriers to 87% indicates expansion. Based on the analysis of cell viability, and fluconazole glucanase extract can inhibit the growth of *C. albicans* cells by 34%. A mixture of glucosamine treatment, fluconazole, and glucanase extract could increase to 67% inhibitory power

**Key words:** *C. albicans*, biofilm, glucosamine, extract glucanase from *Achatina fulica*, fluconazole, Bgl2

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINIALITAS .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
KATA PENGANTAR .....	vi
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
BAB 1 .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
BAB II .....	7
2.1. <i>Candida albicans</i> .....	7
2.2. Virulensi <i>C. albicans</i> .....	9
2.3. Biofilm <i>C. albicans</i> .....	11
2.4. Resistensi Biofilm <i>C. albicans</i> terhadap Antifungi .....	14
2.5. Flukonazol .....	15
2.6. Ekstrak Enzim <i>Achatina fulica</i> .....	17
2.7. Glukosamin sebagai Ligan Protein Bgl2 .....	20
2.8. Spektrofotometri UV-Vis .....	21
2.9. Analisis Viabilitas Sel .....	22
2.9. Kristal Violet .....	24
2.10. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) .....	26
2.11. <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) .....	27
BAB III .....	29
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	29

3.2.	Bahan dan Alat Penelitian.....	29
3.2.1.	Bahan-bahan penelitian .....	29
3.2.1.	Alat-alat penelitian .....	30
3.3.	Diagram Alir Penelitian .....	31
3.4.	Prosedur Penelitian .....	32
3.4.1.	Persiapan bahan dan alat .....	32
3.4.2.	Pembuatan media.....	32
3.4.2.1.	Media padat <i>Saboraud Dextrose Agar</i> (SDA) .....	32
3.4.2.2.	Media cair <i>Yeast Peptone Dextrose</i> (YPD).....	32
3.4.2.3.	Media spider.....	32
3.4.2.4.	Media cair <i>Saboraud Dextrose Broth</i> (SDB) 8% glukosa	33
3.4.3.	Pembuatan inokulum .....	33
3.4.4.	Penyimpanan <i>C. albicans</i> .....	33
3.4.5.	Inokulasi <i>C. albicans</i> dalam biakan padat.....	33
3.4.6.	Pembuatan biofilm.....	34
3.4.7.	Karantina <i>Achatina Fulica</i> .....	35
3.4.8.	Panen enzim dari <i>Achatina Fulica</i> .....	35
3.4.9.	Uji variasi kadar glukosamin terhadap pembentukan biofilm <i>C. albicans</i> .....	36
3.4.9.	Analisis biofilm dengan menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) .....	36
3.4.10.	Uji daya inhibisi glukosamin terhadap pembentukan matriks ekstraseluler biofilm <i>C. albicans</i> .....	37
3.4.11.	Analisis viabilitas sel.....	38
3.4.12.1.	Pengukuran dengan metode XTT .....	38
3.4.12.2.	Pegukuran dengan metode kristal violet .....	38
BAB IV	.....	39
4.1.	Persiapan <i>C. albicans</i> .....	39
4.1.1.	Regenerasi <i>C. albicans</i> .....	40
4.2.	Pembuatan Inokulum <i>C. albicans</i> .....	41
4.3.	Pembentukan Biofilm <i>C. albicans</i> .....	43
4.4.	Produksi Ekstrak Enzim Glukanase dari <i>Achatina fulica</i> .....	44
4.4.1.	Karantina <i>Achatina fulica</i> .....	44
4.4.2.	Panen ekstrak glukanase dari <i>Achatina fulica</i> .....	45

4.5.	Uji Glukosamin dengan Variasi Kadar terhadap Pembentukan Biofilm <i>C. albicans</i> .....	46
4.5.1.	Analisis hasil <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan dengan ekstrak glukukanase, glukosamin dan flukonazol.....	52
4.6.	Uji Daya Inhibisi Glukosamin terhadap Biofilm <i>C. albicans</i> .....	57
4.6.1.	Pengaruh perlakuan glukosamin terhadap penurunan jumlah matriks ekstraseluler .....	57
4.6.2.	Pengaruh glukosamin terhadap penurunan jumlah sel hidup	59
4.7.	Uji Inhibisi Pembentukan Matriks Ekstraseluler Biofilm <i>C. albicans</i> dengan Campuran Glukosamin dan Ekstrak Glukanase .....	61
4.7.1.	Pengaruh perlakuan glukosamin dan perlakuan campuran glukosamin dan ekstrak glukukanase terhadap penurunan matriks ekstraseluler biofilm <i>C. albicans</i> .....	61
4.7.2.	Pengaruh perlakuan glukosamin dan perlakuan campuran glukosamin dan ekstrak glukukanase terhadap penurunan jumlah sel hidup.....	64
4.8.	Analisis Viabilitas Biofilm <i>C. albicans</i> Setelah Mendapatkan Perlakuan Campuran Ekstrak Glukanase, Glukosamin dan Flukonazol dan Perlakuan Campuran Ekstrak Glukanase dan Flukonazol .....	66
4.9.	Ringkasan Analisis Viabilitas Sel dan Matriks Ekstraseluler Sel Biofilm <i>C. albicans</i> setelah Perlakuan dengan Ekstrak Glukanase, Glukosamin dan Flukonazol .....	70
BAB V	.....	71
5.1.	Kesimpulan .....	71
5.2.	Saran .....	71
DAFTAR PUSTAKA	.....	72

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>	<b>Judul Tabel</b>	<b>Halaman</b>
2.1	Obat-obat antifungi terbagi atas 4 kelas kategori utama	15
2.2	Breakpoints klinis (CBPs) pada <i>Candida</i> spp. untuk menentukan isolat sebagai rentan (S) atau resisten (R) sesuai dengan <i>in vitro</i> nilai minimum konsentrasi hambatan yang paling relevan dengan obat antifungi	16
2.3	Data kristal violet	25
4.1	Analisis viabilitas sel dan matriks ekstraseluler sel biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan dengan ekstrak glukosamin, glukosamin dan flukonazol pada variasi inkubasi 3 jam dan 6 jam yang di analisa dengan <i>microtiter plate reader</i>	70



## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Dinding sel <i>C. albicans</i>	8
2.2	Tahapan pembentukan biofilm	12
2.3	Flukonazol	17
2.4	Anatomi <i>Achatina fulica</i>	18
2.5	Glukosamin	20
2.6	Struktur tetrazolium XTT dan Formazan	23
2.7	Reaksi reduksi <i>menadione</i> menjadi menadiol	24
2.8	Struktur kristal violet	26
2.9	Prinsip kerja SEM	27
3.1	Diagram alir penelitian	31
3.2	Gambaran skematis system pertumbuhan biofilm <i>C. albicans</i> secara <i>in vitro</i>	35
4.1	Kultur stok <i>C. albicans</i> pada media padat SDA yang dibuat dengan metode gores ( <i>streak</i> )	39
4.2	Regenerasi <i>C. albicans</i>	40
4.3	Profil pertumbuhan <i>C. albicans</i> tanpa perlakuan	42
4.4	Biofilm pada membrane selulosa nitrat	44
4.5	Panen cairan digestive dari <i>Achatina fulica</i>	46
4.6	Hasil pengamatan makroskopis biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan dengan glukosamin selama 3 jam secara visual	47
4.7	Hasil pengamatan makroskopis biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan dengan glukosamin selama 6 jam secara visual	48
4.8	Hasil pengamatan makroskopis biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan dengan glukosamin selama 9 jam secara visual	49
4.9	Hasil pengamatan makroskopis biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan 9 jam	50
4.10	Biofilm dengan perlakuan yang dikeringkan didalam oven dengan suhu 37°C selama 24 jam	50
4.11	Hasil pengamatan makroskopis biofilm <i>C. albicans</i> setelah dilakukan proses pencucian dengan etanol bertingkat dan pengeringan selama 48 jam	51
4.12	Hasil SEM ( <i>Scanning electron microscope</i> ) biofilm <i>C. albicans</i> yang ditumbuhkan selama 24 jam dengan perbesaran 5000x	53
4.13	Hasil SEM ( <i>Scanning electron microscope</i> ) biofilm <i>C. albicans</i> yang diberikan perlakuan glukosamin, glukonase dan flukonazol dengan perbesaran 5000x	55
4.14	Gambar SEM biofilm <i>C. albicans</i>	56
4.15	Grafik penurunan biofilm <i>C. albicans</i> perlakuan	58

	glukosamin dengan variasi waktu inkubasi	
4.16	Grafik persentase hambatan dalam penurunan jumlah matriks ekstraseluler biofilm <i>C. albicans</i>	59
4.17	Grafik jumlah sel hidup <i>C. albicans</i> dengan perlakuan glukosamin terhadap biofilm <i>C. albicans</i> .	60
4.18	Grafik hambatan pertumbuhan biofilm <i>C. albicans</i> setelah mendapatkan perlakuan glukosamin dengan variasi waktu inkubasi	61
4.19	Grafik penurunan biofilm <i>C. albicans</i> dengan perlakuan campuran glukosamin dan ekstrak glukonase dan perlakuan glukosamin dengan variasi waktu inkubasi	62
4.20	Grafik hambatan pertumbuhan biofilm <i>C. albicans</i> setelah mendapatkan perlakuan campuran glukosamin dan ekstrak glukonase dan perlakuan glukosamin dengan variasi waktu inkubasi	63
4.21	Grafik penurunan sel hidup biofilm <i>C. albicans</i> dengan perlakuan campuran glukosamin dan ekstrak glukonase dan perlakuan glukosamin dengan variasi waktu inkubasi	64
4.22	Grafik hambatan pertumbuhan biofilm <i>C. albicans</i> setelah mendapatkan perlakuan campuran glukosamin dan ekstrak glukonase dan perlakuan glukosamin dengan variasi waktu inkubasi.	65
4.23	Grafik viabilitas biofilm dengan perlakuan campuran glukosamin, ekstrak glukonase dan flukonazol dan perlakuan campuran ekstrak glukonase dan flukonazol dengan variasi waktu inkubasi.	66
4.24	Struktur $\beta$ -1,3-glukan dan sisi pemotongannya oleh enzim $\beta$ -1,3-glukanase ditunjukkan dengan tanda panah	68
4.25	Grafik viabilitas biofilm dengan perlakuan campuran glukosamin, ekstrak glukonase dan flukonazol dan perlakuan campuran ekstrak glukonase dan flukonazol dengan variasi waktu inkubasi	69

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Nomor</b>	<b>Judul Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1	Pembuatan Reagen dan Media	77
2	Topografi <i>Microtitre plate</i>	81
3	Hasil <i>Microtitre-plate Reader</i>	83
4	Data Hasil Pengukuran Sel Hidup dan Matriks Ekstraseluler biofilm <i>C. albicans</i>	87
5	Persentase Hambatan Sel Hidup dan Matriks ekstraseluler biofilm <i>C albicans</i>	89
6	Dokumentasi penelitian	90

