

## ANALISIS KADAR KARBOHIDRAT DAN PROTEIN PADA MEDIA BEKATUL UNTUK PERTUMBUHAN *Candida albicans*

Mujahidah Basarang<sup>1)</sup>, Nur Qadri Rasyid<sup>1)</sup>, Rahmawati<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Dosen Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Muhammadiyah Makassar

### ABSTRACT

The ability of *Candida albicans* to grow, survive and develop depends on carbon and nitrogen sources. Carbohydrates and proteins in growth media of *C. albicans* are a source of carbon and nitrogen found in rice bran as the raw material for bran dextrose agar media. This study aims to determine carbohydrate and protein levels in bran media for the growth of *C. albicans*. Carbohydrate content was measured using the Luff Schoorl method and protein content was measured using the Kjeldahl method. IBDA200 media contains higher carbohydrate and protein content, which are 9.11% and 1.64%. SBDA2 media contained the lowest carbohydrate and protein levels of 0.44% and 0.08%. The results of this study indicate that media containing rice bran infusion has the highest carbohydrate and protein.

**Keywords:** Carbohydrate, protein, bran, *Candida albicans*

### 1. PENDAHULUAN

Kejadian infeksi jamur mengalami peningkatan yang sangat signifikan, sehingga infeksi jamur dianggap berkontribusi terhadap peningkatan angka kesakitan dan kematian pada pasien rawat inap terutama pasien imunokompromais [1][2]. Hal ini disebabkan oleh peningkatan resistensi antimikroba dan terbatasnya antifungi. Genus *Candida* merupakan salah satu jamur berspektrum luas yang paling sering menginfeksi manusia. *Candida* mengalami pertumbuhan yang cepat pada mukokutan sampai infeksi sistemik [3]. *Candida* juga sering ditemukan sebagai penyebab infeksi nosokomial pada aliran darah di perawatan intensif rumah sakit [4]. Salah satu jenis *Candida* yang paling pathogen dan penyebab paling umum berbagai jenis kandidiasis adalah *Candida albicans* [3].

Penegakan diagnosis penyakit kandidiasis yang disebabkan oleh *C. albicans* tergantung pada gejala klinis dan identifikasi agen penyebab penyakit tersebut melalui metode laboratorium mikrobiologi, salah satunya adalah metode kultur. Meskipun metode ini dianggap sebagai metode konvensional tapi masih menjadi pilihan yang dipercaya di laboratorium mikrobiologi klinis untuk menentukan penyebab penyakit menular [5][6][7][8][9]. Kultur mikrobiologis adalah metode penggandaan mikroorganisme dengan membiarkan mikroorganisme berkembang biak dalam media kultur di laboratorium pada kondisi terkontrol [9].

Pertumbuhan *C. albicans* di laboratorium ditunjang oleh kondisi lingkungan yang terkontrol. Kondisi ini meliputi ketersediaan nutrisi pada media pertumbuhan [9][10]. Persyaratan nutrisi bagi pertumbuhan mikroorganisme sebagai sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, sumber belerang dan fosfor, sumber unsur logam seperti natrium, kalium, magnesium, mangan, besi, seng, tembaga, dan kobalt, sumber vitamin, dan sumber air yang terkandung di dalam media [9][11][12]. Berdasarkan susunan kimianya, media pertumbuhan dibagi menjadi dua, yaitu media sintetik dan media nonsintetik. Media sintetik mengandung bahan kimia yang telah dimurnikan dan diketahui secara terperinci komposisinya. Sedangkan media nonsintetik adalah media yang mengandung bahan yang tidak dimurnikan sehingga tidak diketahui komposisinya [9]. Sabouraud Dextrose Agar (SDA) dan Potato Dextrose Agar adalah contoh media sintetik yang selektif untuk pertumbuhan jamur karena memiliki pH 4,5 – 5,6 [13]. Media nonsintetik dikenal sebagai media alternatif yang menggunakan sumber daya yang banyak tersebar di alam, seperti bekatul.

Bekatul merupakan bahan halus dari limbah penggilingan padi dan dapat dijadikan sebagai bahan baku media pertumbuhan *C. albicans* [14]. Media bekatul juga telah digunakan untuk mengidentifikasi *C. albicans* pada bilasan bronkus penderita tuberkulosis [15]. Dalam 100 g bekatul mengandung 17,50 g protein dan 52,33 g karbohidrat [16]. Karbohidrat dan protein yang terdapat dalam media sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan dan patogenesis jamur [17][18]. Karbohidrat sebagai sumber karbon dan protein sebagai sumber nitrogen adalah sumber utama untuk proses biosintesis dan sumber energi [19].

<sup>1</sup> Korespondensi penulis: Mujahidah Basarang, Telp. 085255011014, mujahidahbasarang@yahoo.com

Pada penelitian ini menggunakan media berbahan bekatul dengan teknik penyiapan berbeda, yaitu menggunakan infus bekatul dan serbuk infus bekatul. Untuk mengetahui faktor nutrisi yang mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans* pada kedua teknik ini maka dapat dilakukan pengukuran kadar karbohidrat dan protein pada media bekatul.

## 2. METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah labu Erlenmeyer, gelas ukur, timbangan analitik, indikator pH, autoklaf, cawan petri, sendok tanduk, batang pengaduk, aluminium foil, kapas, labu Kjeldhal, labu ukur, alat penyuling, spritus, tabung reaksi, *colony counter*, jarum ose, mikroskop, inkubator. Bahan yang digunakan adalah bekatul, serbuk infus bekatul, biakan *Candida albicans*, dextrose, agar, PDA, SDA, aquades, kloramfenikol, kristal violet, iodin, alkohol 95%, safranin, HCL 3%, NaOH 30%, indikator PP 0,1%, asam asetat glacial 3%, larutan Luff Schoorl, butir batu didih, es batu, KI 20%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%, larutan natrium tiosulfat 0,1 N, larutan amilum 0,5%, campuran selen, larutan asam borat 2%, dan HCl 0,01 N.

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan beberapa media, yaitu media SBDA, media iBDA 150, media iBDA 200, media SDA dan media PDA. Media SBDA terdiri atas serbuk infus bekatul, dextrose dan agar dibuat sebanyak 42 g/1000 mL, 44 g /1000 mL, 46 g /1000 mL, 48 g /1000 mL dan 50 g /1000 mL. Media iBDA 150 dibuat dari 150 g infus bekatul, agar 20 g dan dextrosa 20 g dalam 1000 mL. Media iBDA 200 dibuat dari 200 g infus bekatul, agar 20 g dan dextrosa 20 g dalam 1000 mL [14][20][21]. Media PDA sebanyak 39 g dilarutkan dengan aquades 1000 mL menggunakan *hot plate*. Media SDA sebanyak 65 g dengan aquades 1000 mL menggunakan *hot plate*. Masing-masing media diukur pH  $5,6 \pm 0,2$ . Selanjutnya media disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C. Setelah proses sterilisasi selesai, media dibiarkan sampai suhu 45-50<sup>0</sup>C kemudian ditambahkan kloramfenikol 0,05 g/L. Media dituang ke dalam cawan petri setril sebanyak 15-20 mL dan dibiarkan memadat.

Biakan murni *Candida albicans* dibuat pengenceran sampai 10<sup>-5</sup> menggunakan NaCl 0,9%. Suspensi diinokulasikan pada masing-masing media dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu 25<sup>0</sup>C [13]. Koloni yang tumbuh dihitung dan dilanjutkan dengan uji konfirmasi melalui pewarnaan dan pengamatan mikroskop [22].

Media yang digunakan diukur kadar karbohidratnya menggunakan metode Luff Schoorl. Sampel 5 g dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 500 mL. Ditambahkan 200 mL larutan HCl 3%, dididihkan selama 3 jam dengan pendingin tegak. Didinginkan dan ditambahkan 3 tetes indikator PP 0,1% lalu dinetralkan dengan larutan NaOH 30%. Ditambahkan sedikit asam asetat glacial 3% agar suasana larutan sedikit asam. Dipindahkan ke dalam labu ukur 500 mL dan ditepatkan volume dengan aquades, dihomogenkan lalu. Dipipet 10 mL filtrat ke dalam Erlenmeyer 500 mL, ditambahkan larutan Luff Schoorl dan 3 butir batu didih, kemudian dipanaskan dengan suhu yang tetap (mendidih dalam waktu 3 menit) selama 10 menit kemudian segera didinginkan dalam bak berisi es. Setelah dingin ditambahkan 15 mL KI 20% dan 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25% perlahan-lahan. Titrasi secepatnya dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N (gunakan indikator larutan amilum 0,5%) [23].

Kadar protein setiap media diukur dengan menggunakan metode Kjeldhal. Sampel 0,51 g dimasukkan ke dalam labu Kjeldhal 100 mL. Ditambahkan 2 g campuran selen dan 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Dipanaskan di atas pemanas listrik sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan (sekitar 2 jam). Biarkan dingin, kemudian diencerkan dan masukkan ke dalam labu ukur 100 mL, tepatkan sampai tanda garis. Dipipet 5 mL larutan dan masukkan ke dalam alat penyuling, ditambahkan 5 mL NaOH 30% dan beberapa tetes indikator PP. Disuling selama kurang lebih 10 menit, sebagai penampung gunakan 10 mL larutan asam borat 2% yang telah dicampur indikator. Ujung pendingin dibilas dengan air suling. Dititrasi dengan larutan HCl 0,01 N. Dikerjakan penetapan blanko [23].

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Media pertumbuhan mengandung nutrisi yang berperan sebagai penyusun komponen kimia struktur *C. albicans* dalam proses pertumbuhan. Nutrisi penting yang menunjang pertumbuhan adalah tersedianya sumber karbohidrat dan protein [17]. Pada penelitian ini menggunakan infus bekatul dan serbuk infus bekatul sebagai sumber karbohidrat dan protein untuk media pertumbuhan *C. albicans*. Media bekatul diukur kadar karbohidrat dan kadar protein untuk mengetahui pengaruh kadar nutrisi tersebut terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Hasil pengukuran kadar karbohidrat dan protein media disajikan pada tabel 1 berikut ini.

**Tabel 1. Kadar Karbohidrat dan Protein pada Media Pertumbuhan *C. albicans***

No.	Media	Kadar (%)	
		Karbohidrat	Protein
1	PDA	2,82	0,96
2	SDA	1,86	1,13
3	iBDA150	5,67	1,20
4	iBDA200	9,11	1,64
5	SBDA2	0,44	0,08
6	SBDA4	0,96	0,14
7	SBDA6	1,15	0,15
8	SBDA8	1,50	0,16
9	SBDA10	3,37	0,17

Dari tabel 1 di atas menunjukkan bahwa kadar karbohidrat dan protein tertinggi terdapat pada media iBDA200. Sedangkan kadar karbohidrat dan protein terendah adalah SBDA 2. Pada media ini diinokulasi *C. albicans* untuk mengamati pertumbuhannya dengan menghitung jumlah koloninya. Adapun hasilnya terdapat pada tabel 2 berikut.

**Tabel 2. Jumlah Koloni *C. albicans***

No.	Media	Jumlah Koloni <i>C. albicans</i> (CFU)
1	PDA	1.5x10 <sup>7</sup>
2	SDA	1,6x10 <sup>7</sup>
3	iBDA150	1,7x10 <sup>7</sup>
4	iBDA200	1,8x10 <sup>7</sup>
5	SBDA2	9x10 <sup>6</sup>
6	SBDA4	8,1x10 <sup>6</sup>
7	SBDA6	1,2x10 <sup>7</sup>
8	SBDA8	1,3x10 <sup>7</sup>
9	SBDA10	1,2x10 <sup>7</sup>

*C. albicans* paling banyak tumbuh pada media iBDA200 yaitu 1,8x10<sup>7</sup> CFU dan jumlah koloni yang paling sedikit pada media SBDA4 yaitu 8,1x10<sup>6</sup> CFU. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa pertumbuhan *C. albicans* lebih baik pada media iBDA200 yang mengandung kadar karbohidrat dan kadar protein lebih tinggi, yaitu 9,11% dan 1,64%. Kadar karbohidrat dan protein ini lebih besar dibandingkan pada media SDA dan PDA, media umum yang telah digunakan dalam pertumbuhan jamur di laboratorium. Media iBDA200 merupakan media yang berbahan dasar bekatul yang dibuat infus sebanyak 200 g dalam 1000 mL. Sedangkan media SBDA terbuat dari infus bekatul yang dibuat serbuk menggunakan *freeze dryer*. Pada penelitian ini SBDA dibuat beberapa konsentrasi dengan menambahkan serbuk infus bekatul sebanyak 2 g, 4 g, 6 g, 8 g dan 10 g [21].

Pertumbuhan jamur membutuhkan media yang mengandung karbohidrat dan protein yang tinggi. Media ini dapat bersumber dari alam seperti batang kayu, biji, daun, tepung jagung, biji gandum, oatmeal dan lain sebagainya [17]. Bekatul merupakan salah satu bahan alam yang dianggap memiliki sumber karbohidrat dan protein tinggi sehingga dapat dijadikan sebagai bahan baku pembuatan media [14].

Syarat utama pertumbuhan dan perkembang jamur adalah fleksibilitas metabolisme, oleh karena itu jamur harus dapat mengasimilasi berbagai sumber karbon [24]. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang dibutuhkan *C. albicans* untuk pertumbuhan. Kadar karbohidrat yang berbeda setiap media mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans* karena karbohidrat merupakan sumber utama karbon metabolik dan sumber energi dan memproduksi biomolekul atau biomassa baru sehingga pertumbuhan jamur yang cepat bergantung pada penyerapan dan metabolisme yang efisien dari sumber karbon yang tersedia. Sumber karbon berupa gula yang dapat difermentasi (seperti glukosa, fruktosa, dan galaktosa) dan sumber karbon yang tidak dapat difermentasi (seperti asam amino dan asam organik). Sebagian besar glukosa dikonversi menjadi glukosa 6-fosfat atau fruktosa 6-fosfat sebelum memasuki jalur glikolitik. Glikolisis kemudian bertanggung jawab untuk mengubah heksosa fosfat ini menjadi piruvat untuk menghasilkan ATP dan NADH. Melalui proses inilah sel

memproduksi energi, yaitu fermentasi dan respirasi. Meskipun kedua proses menghasilkan kembali NAD<sup>+</sup>, respirasi secara signifikan lebih efisien secara energetik daripada fermentasi karena menghasilkan ATP tambahan melalui siklus asam tricarboxylic (TCA) dan fosforilasi oksidatif. Namun, terlepas dari mode produksi energi, glikolisis adalah jalur sentral yang umum untuk kedua proses [18][24]. Penambahan glukosa pada media SDA meningkatkan pertumbuhan *C. albicans* [25].

Selain membutuhkan sumber karbon, pertumbuhan *C. albicans* juga membutuhkan nitrogen. Sumber nitrogen sangat beragam, seperti amino, glutamin, asparagin, dan glutamat. Namun ketika sumber nitrogen terbatas atau tidak tersedia, jamur dapat menggunakan asam amino lain, poliamin, atau mulai menghidrolisis protein yang terdapat pada media [19][26]. Ketersediaan sumber nitrogen untuk penyerapan dan degradasi nitrogen sangat penting untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan, mengatur fenotip sekresi protease serta virulensi *C. albicans*. Hal ini disebabkan nitrogen diperlukan untuk hampir semua proses biosintesis [18][26][27].

#### 4. KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa media iBDA200 memiliki kadar karbohidrat tertinggi yaitu 9,11% dan kadar protein tertinggi, yaitu 1,64% yang mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans*.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- [1] J. C. O. Sardi, L. Scorzoni, T. Bernardi, A. M. Fusco-Almeida, and M. J. S. Mendes Giannini, "Candida species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options," *J. Med. Microbiol.*, vol. 62, no. PART1, pp. 10–24, 2013.
- [2] S. C. Deorukhkar and S. Saini, "Why Candida Species have Emerged as Important Nosocomial Pathogens?," *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 533–545, 2016.
- [3] S. C. Deorukhkar, "Identification of Candida Species: Conventional Methods in the Era of Molecular Diagnosis," *Ann. Microbiol. Immunol.*, vol. 1, no. 1, p. 1002, 2018.
- [4] C. J. Clancy and M. H. Nguyen, "Diagnosing invasive candidiasis," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 56, no. 5, pp. 1–9, 2018.
- [5] V. K. Mutiawati, "PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI PADA CANDIDA ALBICANS," *J. Kedokt. Syiah Kuala*, 2016.
- [6] M. M. Simatupang, "CANDIDA ALBICANS OLEH Dr. MARIA MAGDALENA SIMATUPANG," 2008.
- [7] P. S. Bhavan, R. Rajkumar, S. Radhakrishnan, C. Seenivasan, and S. Kannan, "Culture and Identification of Candida Albicans from Vaginal Ulcer and Separation of Enolase on SDS-PAGE," *Int. J. Biol.*, vol. 2, no. 1, 2010.
- [8] C. Y. Miao X., Zhao K., Chen N., *Microbial Culture and Its Clinical Application*. China: Springer, Berlin, Heidelberg, 2014.
- [9] V. Kanojia, B. Naseer, T. Qadri, A. Rouf, and H. R. Naik, "An overview of microbial cell culture," ~ 1923 ~ *J. Pharmacogn. Phytochem.*, vol. 6, no. 6, pp. 1923–1928, 2017.
- [10] S. A. Shareef, "Formulation of Alternative Culture Media from Natural Plant Protein Sources for Cultivation of Different Bacteria and Fungi," *Zanco J. Pure Appl. Sci.*, vol. 31, no. 4, 2019.
- [11] G. F. Brooks, K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, and T. A. Mietzner, *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*, 25th ed. Jakarta: EGC, 2013.
- [12] L. Waluyo, *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Pres, 2016.
- [13] J. G. Cappucino and N. Sherman, *Manual Laboratorium Mikrobiologi*, 8th ed. Jakarta: EGC, 2014.
- [14] M. Basarang, N. Naim, and Rahmawati, "Perbandingan Pertumbuhan Jamur pada Media Bekatul Dextrose Agar (BDA) dan Potato Dextrose Agar (PDA) pada Seminar Nasional Hasil Penelitian," 2018, no. November, pp. 121–125.
- [15] M. Basarang and M. R. Rianto, "Pertumbuhan Candida sp dan Aspergillus sp dari Bilasan Bronkus Penderita Tuberkulosis Paru pada Media Bekatul Growth of Candida sp and Aspergillus sp from Bronchoscopy Pulmonary Tuberculosis Patients on Bran Media," vol. 9, no. 18, pp. 74–82, 2018.
- [16] S. Bhosale and D. Vijayalakshmi, "Processing and nutritional composition of rice bran," *Curr. Res. Nutr. Food Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 74–80, 2015.
- [17] S. Basu *et al.*, "Evolution of bacterial and fungal growth media," *Bioinformation*, vol. 11, no. 4, pp. 182–184, 2015.

- [18] I. V. Ene, S. Brunke, A. J. P. Brown, and B. Hube, "Metabolism in fungal pathogenesis," *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 4, no. 12, pp. 1–21, 2014.
- [19] A. Banerjee, K. Ganesan, and A. Datta, "Induction of secretory acid proteinase in *Candida albicans*," *J. Gen. Microbiol.*, vol. 137, no. 10, pp. 2455–2461, 1991.
- [20] Food Drug and Administration, "BAM Media M127: Potato Dextrose Agar," <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/labor>, 2017. .
- [21] M. Basarang and Mardiah, "Penggunaan Serbuk Infus Bekatul Sebagai Bahan Baku Bekatul Dextrosa Agar untuk Pertumbuhan Jamur," Makassar, 2019.
- [22] B. W. Lay, *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada, 1994.
- [23] Standar Nasional Indonesia, *Cara Uji Makanan dan Minuman*. Indonesia: Badan Standar Nasional, 1992, pp. 1–32.
- [24] C. Askew *et al.*, "Transcriptional regulation of carbohydrate metabolism in the human pathogen *Candida albicans*," *PLoS Pathog.*, vol. 5, no. 10, 2009.
- [25] L. A. Leepel, R. Hidayat, R. Puspitawati, and B. M. Bahtiar, "Efek Penambahan Glukosa pada Saburoud Dextrose ( UJI IN VITRO )," *Indones. J. Dent.*, vol. 16, no. 1, pp. 58–63, 2009.
- [26] S. Ramachandra, J. Linde, M. Brock, R. Guthke, B. Hube, and S. Brunke, "Regulatory networks controlling nitrogen sensing and uptake in *Candida albicans*," *PLoS One*, vol. 9, no. 3, 2014.
- [27] J. Morschhäuser, "Nitrogen regulation of morphogenesis and protease secretion in *Candida albicans*," *Int. J. Med. Microbiol.*, vol. 301, no. 5, pp. 390–394, 2011.

## 6. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Kemenristek Dikti karena telah membiayai penelitian ini melalui skim Penelitian Dosen Pemula.