

UJI POTENSI EKSTRAK BAWANG PUTIH (*ALLIUM SATIVUM*) SEBAGAI PENGHAMBAT PEMBENTUKAN BIOFILM *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* SECARA IN VITRO.

Annisa Laili Fatimah¹, Sanarto Santoso², Aina Angelina³

¹Mahasiswa Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

³Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Streptococcus pneumoniae merupakan salah satu penyebab penyakit Infeksi Saluran Napas Bawah Akut (ISNBA) diparenkim paru yang dapat menyebabkan kematian apabila tidak tertangani dengan baik. *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri gram positif dan flora normal pada saluran pernafasan bagian atas manusia. Infeksi Saluran Napas Bawah Akut merupakan salah satu penyakit paling banyak diderita oleh negara berkembang termasuk Indonesia. Prevalensi penyakit pneumonia di Indonesia terjadi peningkatan dari 2.1% menjadi 2.7% dari tahun 2007 sampai 2013 menurut survey riskesmas tahun 2013 sedangkan menurut survey yang dilakukan WHO dan UNICEF pada tahun 2009 bahwa lebih dari 2 juta anak balita meninggal dunia karena pneumonia setiap tahunnya, sedangkan penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan resistensi strain mikroba *Streptococcus pneumoniae* sehingga tahan terhadap antibiotic. Oleh karena itu resistensi ini merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama, maka peneliti mencari bahan alternatif yang lebih baik sebagai antimikroba ini, salah satunya bawang putih yang memiliki efek menghambat cincin biofilm yang disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai April di Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Variabel bebas penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan sedangkan Variabel tergantung yaitu biofilm bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Penelitian ini menggunakan Uji Kruskal-willies, Uji Mann-Whitney dan Uji rank-spearman dan didapatkan nilai signifikansi uji Kruskal-willies sebesar 0.000 ($p < 0.05$) hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak bawang putih dengan pembentukan biofilm *Streptococcus pneumoniae*, pada Uji Rank-Spearman didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$) hal ini menunjukkan hubungan signifikan antara variasi pemberian semua konsentrasi ekstrak etanol bawang putih dengan pembentukan biofilm *S.pneumoniae*, sedangkan pada uji mann-white didapatkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$).

Kata kunci: *Streptococcus pneumoniae*, *Allium Sativum*, Biofilm, In Vitro

POTENTIAL TEST

Streptococcus pneumoniae is one of the causes of acute lower respiratory tract infections (ISNBA) in the lungs that can cause death if not handled properly. *Streptococcus pneumoniae* is a gram-positive bacteria and normal flora in the upper respiratory tract of humans. Acute lower respiratory tract infections are one of the most common illnesses in developing countries including Indonesia. The prevalence of pneumonia in Indonesia increased from 2.1% to 2.7% from 2007 to 2013 according to the 2013 Riskesdas survey while according to a survey conducted by WHO and UNICEF in 2009 that more than 2 million children under five die from pneumonia each year, while the use of inappropriate antibiotics can cause resistance to microbial strains of *Streptococcus pneumoniae* so that they are resistant to antibiotics. Therefore this resistance is a major public health problem, so researchers are looking for better alternative ingredients as this antimicrobial, one of which is garlic has the effect of inhibiting the biofilm ring caused by *Streptococcus pneumoniae*. This research was conducted from February to April at the FKUB Microbiology Laboratory. The independent variable of this study is the concentration of garlic extract (*Allium sativum*) with a concentration of 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% and while the dependent variable is the bacterial biofilm of *Streptococcus pneumoniae*. This study uses the Kruskal-wallis test, the Mann-Whitney test and the rank-spearman test and the Kruskal-wallis test significance value of 0.000 ($p < 0.05$) shows that there is a significant difference in the concentration of garlic extract with the formation of *Streptococcus pneumoniae* biofilm, in the Rank-Spearman Test obtained a significance value of 0.000 ($p < 0.05$) this shows a significant relationship between variations in the administration of all concentrations of ethanol extract of garlic with the determination of *S. pneumoniae* biofilm, whereas in the mann-white test obtained a significance value of 0,000 ($p < 0.05$).

Keyword : *Streptococcus pneumoniae*, *Allium Sativum*, Biofilm, *In Vitro*

Pendahuluan

Streptococcus pneumoniae adalah penyakit penyebab utama pneumonia bakteri, meningitis, dan sepsis di seluruh dunia untuk kategori anak-anak. *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri gram positif. normal flora di saluran pernafasan bagian atas pada manusia. Penyakit infeksi biasanya menginfeksi seluruh usia dan yang paling banyak di anak-anak, pneumonia satu jenis penyakit yang sering mengidap penyakit ini rata-rata dari negara berkembang seperti negara Indonesia, prevalensi pneumonia di negara Indonesia dari waktu 2007 sampai 2013 mengalami peningkatan sebesar 0.6 %. Penyakit Pneumonia ini menduduki urutan ke-8 penyebab kematian anak di Indonesia. Pemanfaatian antibiotika yang kurang efisien akan memicu resistensi mikroba *Streptococcus pneumoniae*. Dipercaya memiliki manfaat sebagai alternatif dari antibiotic dan mempunyai manfaat seperti antiispasme,ekspekstoran,antiseptik,bakteriostatic, antivirus, dan anti hipertensi. *Streptococcus pneumoniae* bisa memindahkan secara horizontal yaitu via droplet lalu masuk ke saluran pernafasan, bakteri ini menempel pada saluran pernafasan dan membentuk sebuah koloni, sel bakteri berisikan peptidoglikan dan asam teikoat yang isinya salah satunya merupakan faktor virulensi bakteri, sel mikroba ini membentuk suatu kelompok dan menciptakan sesuatu biofilm secara irreversibel. *Extracellular polysaccharides substance* (EPS) merupakan komponen yang utama biofilm ini. *Quorum sensing* pada *Streptococcus pneumoniae* mengordinasi sebagian fenotip, yaitu *Acid Tolerance response* (ATR), pembentukan biofilm, induksi kompetensi, dan produksi bakteriosin. Biofilm berguna untuk proteksi

pertahanan bakteri yang untuk meningkatkan resistensi pada gaya fisik yang akan menurunkan pertumbuhan sel-sel bakteri yang tidak menempel, fagositosis imun dan senyawa toksik bakteri yang penetrasi seperti antibiotic. Mikroskop electron dan *concofocal laser scanning microscope* (CLSM) merupakan sesuatu yang digunakan untuk eksplorasi biofilm . Bawang putih (*Allium sativa*) punya kemampuan antibiotic kandungannya dari bawang putih adalah aktivitas biologi yang berguna di pengobatan yaitu senyawa organosulfur, *allium sativum* dipecahkan hendak terbentuk pelepasan enzim *alliinase* lalu akan melisis *allin* dengan cara memisahkan ikatan karbon dan sulfur *allin* membentuk *sulfenic acid* (R-SOH) senyawa ini akan segera terjadi suatu pengembunan menjadi *allicin* dan *thiosulfinat*. *Allium sativum* juga berisikan senyawa larut air non vatile seperti S-allil sistein (SAC), SAC banyak di berbagai jenis bawang putih, memiliki senyawa aktivitas biologis, adanya SAC di sediaan bawang putih sering dijadikan standar untuk sediaan bawang putih tersebut layak dikonsumsi atau tidak.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) sebagai penghambat pembentukan biofilm *S.pneumoniae* secara invitro.

Metode

True experimental dengan desain penelitian *post-test only control group design* yang digunakan di penelitian ini . Untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap pembentukan biofilm pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*, metode yang digunakan pada penelitian ini adalah *tube-test* (metode tabung). Penelitian ini menggunakan sampel

Streptococcus pneumoniae pembentuk biofilm. Sampel ini diperoleh dari isolat *Streptococcus pneumoniae* pembentuk biofilm yang didapat dari Lab Mikrobiologi FKUB. Variabel bebas penelitian adalah konsentrasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum*). Dalam penelitian ini digunakan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan kontrol 0% sedangkan variabel tergantung pada penelitian ini adalah biofilm bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang diukur dengan metode *tube-test*. Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai April di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembuatan ekstrak bawang putih dilakukan di Politeknik Negeri Malang.

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk kuantitatif, yaitu dengan sistem skoring. Analisis data hasil penelitian menggunakan *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) ver 16.0.

Prosedur penelitian

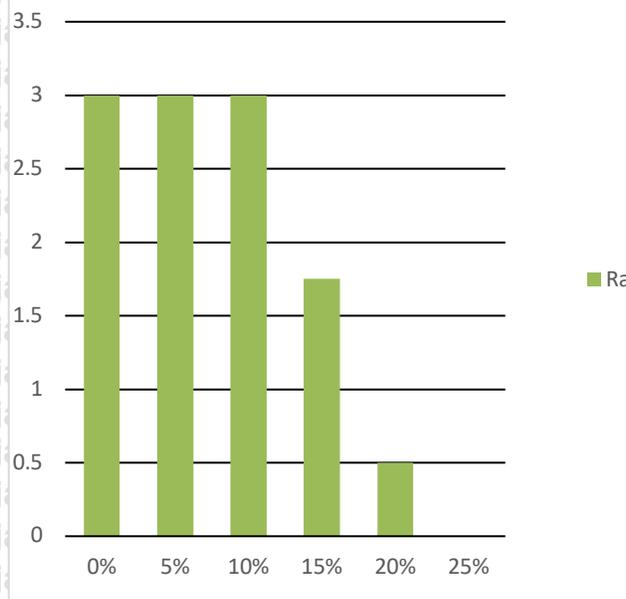
Tabung propilen dipersiapkan untuk wadah pembuatan suspensi bakteri dengan konsentrasi bakteri 1×10^8 CFU/mL dalam medium TSB glu berdasarkan perhitungan OD dari spektrofotometri, Enam tabung steril disediakan untuk mencampurkan suspensi bakteri dan ekstrak bawang putih yang digunakan untuk uji hambat pembentukan biofilm dengan konsentrasi yang berbeda. Setiap tabung diisi 4 mL larutan dengan konsentrasi akhir ekstrak etanol bawang putih sebesar 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Perhitungan menggunakan rumus $N1 \times V1 = N2 \times V2$. Seluruh tabung diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah 24 jam, tabung dikeluarkan dari inkubator dan dicuci dengan PBS (pH 7,3) dan

dikeringkan. Tabung yang sudah kering diberi kristal violet (0,1%) hingga terisi lebih tinggi dari batas larutan yang telah terbentuk pada dinding tabung, tunggu selama 20 menit, lalu kristal violet dibuang dan tabung dicuci dengan *deionized water*. Tabung dikeringkan dan dilakukan pengamatan terhadap pembentukan biofilm pada area *airfluid border* (area antara medium cair dan udara) yang menandakan terbentuknya biofilm.

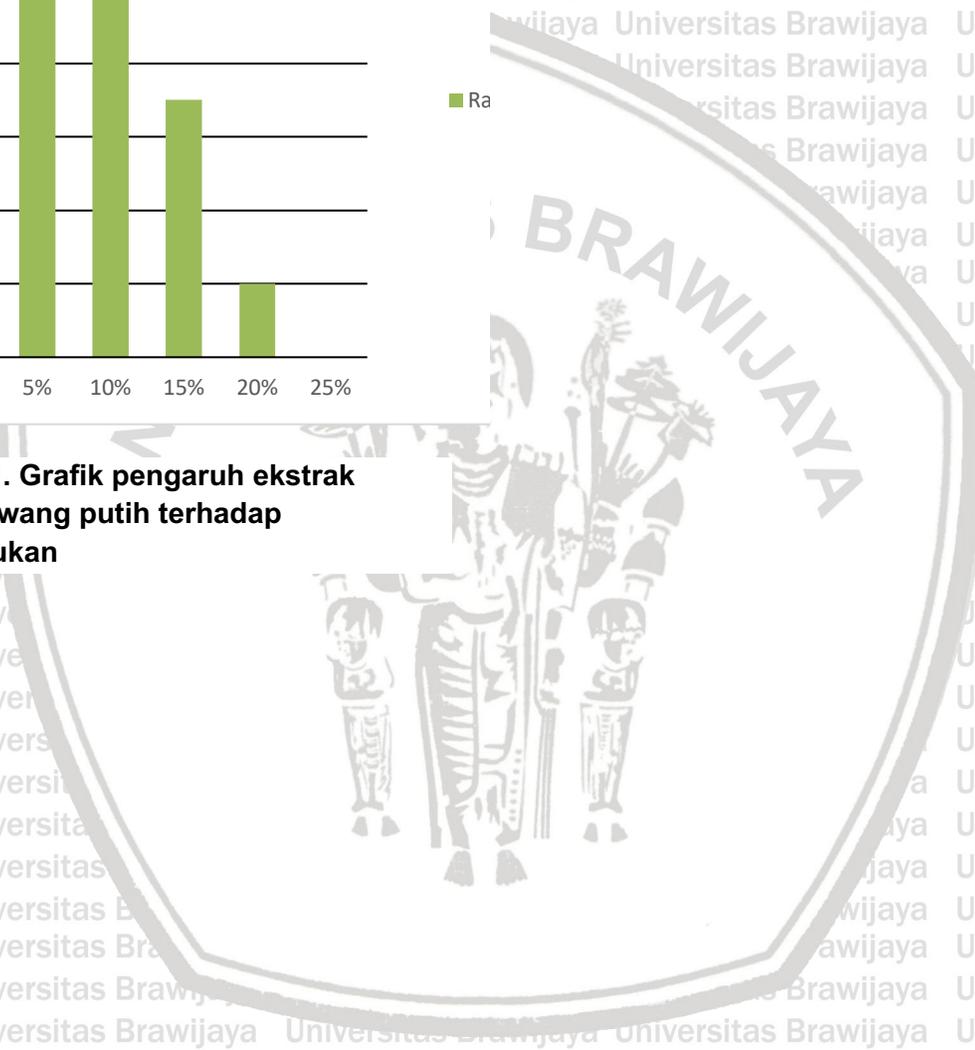
Hasil penelitian

Sebelum penelitian inti dilaksanakan, uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi yang akan diteliti. Konsentrasi pada uji pendahuluan antara lain 0%; 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%. Hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 12,5% sudah tidak terlihat pembentukan cincin biofilm pada area *airfluid border*. Berdasarkan hasil tersebut dapat ditentukan konsentrasi pada penelitian inti, yaitu 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Perlakuan 0% merupakan kelompok kontrol bakteri tanpa pemberian ekstrak.

Grafik Rata - Rata Pembentukan Biofilm Bakteri Streptococcus Pneumoniae Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Bawang Putih



Gambar 1. Grafik pengaruh ekstrak etanol bawang putih terhadap pembentukan



Konsentrasi	Pengulangan				Rata - rata
	I	II	III	IV	
0%	+3	+3	+3	+3	+3
5%	+3	+3	+2	+3	+2,75
10%	+2	+2	+1	+2	+1,75
15%	+2	+2	+1	+1	+1,5
20%	+1	+1	0	0	+0,5
25%	0	0	0	0	+0

Keterangan : 0 =tidak terbentuk cincin
 1= cincin sangat tipis
 2 = cincin tipis
 3 = cincin tebal

Tabel 1. Hasil Pengamatan Ketebalan cincin biofilm

Penelitian ini menggunakan bakteri *S.Pneumoniae* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya. *S.Pneumoniae* ditanam pada tabung yang diberi perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol bawang putih pembentukan biofilm *Streptococcus mutans* secara *in vitro*.

(*Allium sativum*). Ekstrak bawang putih yang digunakan didapatkan dari Materia Medika Batu berupa simplisia bawang putih sebanyak 500 gram yang kemudian diekstraksi di Fakultas Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang dengan menggunakan metode maserasi.

Uji hambat pembentukan biofilm pada penelitian ini dilakukan dengan metode dilusi tabung karena pembentukan cincin biofilm dapat terlihat langsung di *airfluid border* pada dinding tabung. Sebelum dilaksanakannya penelitian inti, dilakukan penelitian pendahuluan untuk menentukan konsentersasi yang akan digunakan pada penelitian inti. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan secara visual bahwa biofilm *S.Pneumoniae* terhambat pada konsentersasi 25% dan 50% sudah tidak terlihat adanya cincin biofilm. Penelitian inti kemudian dilakukan dengan melakukan perapatan konsentersasi menjadi 6 konsentersasi yaitu, 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Hasil penelitian inti menunjukkan penghambatan biofilm secara visual terlihat pada konsentersasi 25% yang ditandai dengan tidak terbentuknya cincin pada *airfluid border* tabung. Sehingga konsentrasi 25% dapat didefinisikan sebagai Kadar Hambat Biofilm Minimal (KHBM).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) dapat menghambat