

Aktivitas Ekstrak Metanol Bawang Putih (*Allium sativum*) sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa*

(*The Activity of Methanolic Extract of Garlic (Allium sativum) in Inhibiting Growth of Biofilm in Pseudomonas aeruginosa*)

Risty Pradana Linggan Wangi, Enny Suswati, Desie Dwi Wisudanti
Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jl. Kalimantan no. 37 Tegalboto, Jember
Email: enny_suswati@yahoo.com

Abstract

Garlic (*Allium sativum*) is one of the most important agricultural product that has organosulphur compound, such as *alliin*, *allicin*, and *ajoene*. Those organosulphur compound used as antibiofilm agent by inhibiting adhesion and quorum sensing process in *Pseudomonas aeruginosa*. The purpose of study was to identify the antibiofilm effect and Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) of methanolic extract of garlic against the growth of *P. aeruginosa* biofilm. This was quasi experimental with posttest only control group design. The colony of *P. aeruginosa* were divided into 7 groups with 5 groups used methanolic extract of garlic as P1-P5 at a dose 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; and 1,5 mg/mL, positive control group (K+) used NAC 80 mg/mL, and negative control group (K-) used sterile water. This research using Microtiter Plate Biofilm Assay Method with 4 replication. The absorbance value was analyzed by using One Way Anova statistical analysis, it showed the significance value $p=0,000$ ($p<0,05$). By using linier regression, the MBIC was obtained at the dose of 0,3468 mg/mL. In conclusion, methanolic extract of garlic had ability to inhibit the growth biofilm of *P. aeruginosa*.

Keywords: biofilm, garlic, Minimum Biofilm Inhibitory Concentration, *P. aeruginosa*

Abstrak

Bawang putih (*Allium sativum*) merupakan hasil pertanian hortikultur yang sering digunakan sebagai bahan pengganti obat yang memiliki senyawa organosulfur seperti *alliin*, *allicin*, dan *ajoene*. Senyawa tersebut bersifat sebagai agen antibiofilm melalui mekanisme pencegahan proses adesi dan *quorum sensing* pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antibiofilm ekstrak metanol bawang putih pada *P. aeruginosa*. Penelitian ini menggunakan penelitian quasi eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Terdapat 7 kelompok dengan 5 kelompok perlakuan (P1-P5) dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; dan 1,5 mg/ml, kontrol positif berisi *N-acetylcystein* 80 mg/ml, dan kontrol negatif berisi air. Pengukuran aktivitas penghambat pembentukan biofilm menggunakan metode *Microtiter Plate Biofilm* dengan 4 kali pengulangan. Nilai absorbansi dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* dan didapatkan signifikansi 0,000 ($p<0,05$). Dengan menggunakan uji regresi linier didapatkan MBIC sebesar 0,3468 mg/mL. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol bawang putih dapat menghambat pertumbuhan biofilm pada *P. aeruginosa*

Kata Kunci: biofilm, bawang putih, Minimum Biofilm Inhibitory Concentration, *P. aeruginosa*

Pendahuluan

Bawang putih (*Allium sativum*) merupakan hasil pertanian hortikultur yang sering digunakan sebagai bahan pengganti obat. Saat ini, bawang putih merupakan salah satu dari dua puluh sayuran terpenting di dunia yang diproduksi sebanyak 300 juta ton per tahun [1]. Sedangkan Indonesia merupakan produsen bawang putih dengan menghasilkan 13.000 ton pada tahun 2013 dan akan terus meningkat hasil produksinya sebanyak 2,56% per tahun [2]. Bawang putih memiliki berbagai kandungan di dalamnya, yaitu *alliin*, *allicin*, *ajoene*, berbagai macam enzim, vitamin B, mineral, dan flavonoid [1]. *Alliin* dan derivat organosulfur lainnya, seperti *allicin*, *ajoene*, dan *allyl methyl sulfide*, merupakan kandungan utama bawang putih sebanyak 85,72% dari total kandungan kimia yang terdapat dalam bawang putih [3].

Sebagai agen antibiofilm, bawang putih dapat menghambat pembentukan biofilm melalui pencegahan proses adhesi dan *detachment* [4]. Setiap bakteri memiliki mekanisme pembentukan biofilm yang berbeda, salah satunya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Matriks biofilm *P. aeruginosa* terdiri atas beberapa macam substansi seperti eksopolisakarida, *extracellular DNA* (eDNA), protein, dan beberapa bahan lain seperti *fimbriae*, *type IV pili* (T4P), dan *flagella*. Eksopolisakarida yang terbentuk terdiri atas alginat, *polysaccharide encoding locus* (*pel*), dan *polysaccharide synthesis locus* (*psl*) [5]. Pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* sangat tergantung pada keberadaan *psl* dan *pel*. Dalam hal ini, *psl* berfungsi sebagai pelindung terhadap reaksi imun tubuh berupa fagositosis oleh neutrofil dan sebagai pelindung terhadap adanya antibiotik yang ada di lingkungan sekitarnya. Sedangkan *pel* merupakan salah satu bahan yang menjadi penyebab terjadinya resistensi pada golongan beta-laktamase, fluorokuinolon, dan aminoglikosida [6].

Infeksi akibat *P. aeruginosa* adalah infeksi yang sebagian besar terjadi di rumah sakit dengan angka kejadian mencapai 4,2% di Jawa Timur [7]. Di Amerika, infeksi akibat *P. aeruginosa* mencapai 51.000 kasus per tahun dengan 6.700 kasus menyebabkan *Multidrug-Resistant Pseudomonas* dan 440 diantaranya mengalami kematian [8]. Terjadinya resistensi

pada *P. aeruginosa* disebabkan karena bakteri ini dapat dengan mudah membentuk biofilm hanya dalam kurun waktu 24 jam [9]. Bakteri yang tumbuh dalam biofilm berada dalam fase dorman sehingga dapat terhindar dari stres lingkungan, salah satunya akibat pengaruh antibiotik [10]. Dibutuhkan antibiotik dengan dosis 100 hingga 1000 kali lebih tinggi untuk membunuh patogen yang dilindungi oleh biofilm [4].

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak metanol bawang putih (*Allium sativum*) sebagai penghambat pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* dan untuk mengetahui berapa konsentrasi minimum bawang putih dalam menghambat pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa*.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada bulan November 2016.

Jenis penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental semu secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Aktivitas ekstrak metanol bawang putih (*Allium sativum*) terhadap penghambat pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* menggunakan metode *Microtiter Plate Biofilm Assay*. Terdapat 7 kelompok dengan 5 kelompok perlakuan (P1-P5) dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; dan 1,5 mg/ml, kontrol positif berisi *N-acetylcystein* 80 mg/ml, dan kontrol negatif berisi air. Penelitian ini dilakukan dengan 4 kali pengulangan.

Sampel yang digunakan adalah koloni bakteri *P. aeruginosa* yang telah distandarkan dengan larutan 0,5 Mc Farland. Ukuran sampel (*sample size*) dihitung dengan rumus *Federer*, sehingga pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali pada masing-masing kelompok perlakuan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol bawang putih dengan 5 serial konsentrasi, yaitu 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; dan 1,5 mg/mL. Variabel terikat adalah aktivitas penghambatan pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* yang didapatkan dari nilai *Optical Density* (OD) yang didapatkan dari

pengukuran menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang. Dan variabel terkendali meliputi pembuatan suspensi *P. aeruginosa*, pembuatan ekstrak, lama inkubasi, suhu inkubasi, pengukuran menggunakan *microplate reader*, dan prosedur penelitian

Pengujian pembentukan biofilm dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode *Microtiter Plate Biofilm Assay* pada *microplate U-bottom PVC 96-well*. Suspensi *P. aeruginosa* dibiakkan pada media MHB selama 24 jam pada suhu 37°C lalu suspensi bakteri tersebut dimasukkan ke dalam media MHB yang baru dengan perbandingan 1:100. Sebanyak 100 µL dari suspensi ini dimasukkan ke dalam *well*. Pada penelitian ini terdapat 7 kelompok, diantaranya adalah kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan 5 serial dosis ekstrak bawang putih. Kelompok perlakuan ditambahkan ekstrak metanol bawang putih dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; dan 1,5 mg/mL sebanyak 100 µL/*well*. Kelompok kontrol positif diberi suspensi bakteri dengan ditambahkan 100 µL NAC 80 mg/mL. Kelompok kontrol negatif diberi suspensi bakteri dengan ditambahkan 100 µL akuades steril. Setelah itu, inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Microplate dicuci dengan *Phospat Buffer Saline* (PBS) steril sebanyak 3 kali, kemudian dikeringkan. Untuk memfiksasi biofilm ditambah 100 µL metanol 99% dan diamkan selama 15 menit. Ditambahkan 100 µL kristal violet 1% dan didiamkan selama 20 menit. Cuci *microplate* dengan akuades dan ditambahkan 100 µL asam asetat glasial 33% dan tunggu 15 menit. Pengamatan dilakukan dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 630 nm.

Data absorbansi yang merupakan nilai *Optical Density* (OD) dianalisis secara statistik menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan *Levene's test* untuk mengetahui persebaran dan homogenitas data. Jika $p > 0,05$, dilanjutkan dengan Uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc test* LSD. Uji regresi linier dilakukan untuk mengetahui MBIC bawang putih terhadap pertumbuhan biofilm *P. aeruginosa*.

Hasil Penelitian

Aktivitas ekstrak metanol bawang putih (*Allium sativum*) terhadap penghambat pembentukan biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode *Microtiter Plate Biofilm Assay* dengan 5 kelompok serial konsentrasi, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif. Hasil penghambatan pembentukan biofilm yang diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 630 nm disajikan dalam bentuk nilai *Optical Density* (OD), sehingga didapatkan nilai rata-rata ± Standar Deviasi (SD) seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran menggunakan *Microtiter Plate Biofilm Assay* (OD630nm)

Repli kasi	Kelompok						
	K (-)	K (+)	P1	P2	P3	P4	P5
1	0,132	0,112	0,137	0,128	0,116	0,114	0,100
2	0,130	0,098	0,134	0,124	0,113	0,110	0,099
3	0,129	0,095	0,129	0,120	0,110	0,108	0,093
4	0,128	0,093	0,127	0,116	0,109	0,106	0,091
Rata-rata ± SD	0,130 ± 0,002	0,100 ± 0,009	0,132 ± 0,005	0,122 ± 0,005	0,112 ± 0,003	0,110 ± 0,003	0,096 ± 0,004

Hasil data kuantitatif yang diperoleh dari Tabel 1 digunakan untuk mengetahui efek masing-masing kelompok perlakuan terhadap pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa*. Data OD tersebut dilakukan penghitungan % inhibisi dengan rumus $\text{Inhibition, \%} = (\text{OD negativecontrol} - \text{OD sample} / \text{OD negativecontrol}) \times 100\%$. Penghitungan % inhibisi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimal ekstrak yang dibutuhkan dalam menghambat pertumbuhan biofilm pada bakteri *P. aeruginosa* pada masing-masing perlakuan seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil persentase inhibisi ekstrak metanol bawang putih terhadap pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa*

Replik asi	Kelompok						
	K (-)	K (+)	P1	P2	P3	P4	P5
1	0	15,15	-3,78	3,03	12,12	13,63	24,24
2	0	24,61	-3,07	4,61	13,07	15,38	23,84
3	0	26,35	0,00	6,97	14,72	16,27	27,90
4	0	27,34	0,78	9,37	14,84	17,18	28,90

Rata-rata	0	23,36	-0,76	6,98	14,21	16,28	26,88
SD		± 5,59	± 2,24	± 2,77	± 1,32	± 1,51	± 2,55

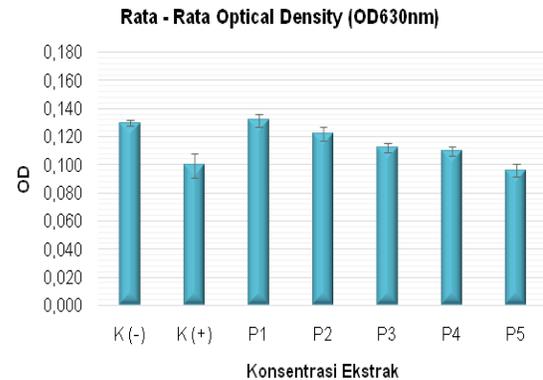
Berdasarkan tabel di atas, aktivitas penghambat pembentukan biofilm dimulai pada kelompok P2 dan terjadi peningkatan % inhibisi pada setiap kelompok perlakuan. P5 merupakan kelompok perlakuan yang memiliki % inhibisi tertinggi yaitu sebesar 26,886 % sedangkan pada kelompok kontrol negatif, rata-rata inhibisi yang didapatkan adalah 0%. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi aktivitas penghambat pembentukan biofilm pada kelompok kontrol negatif.

Dari data tersebut, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi bawang putih maka nilai *Optical Density* (OD) yang dihasilkan semakin rendah dan % inhibisi yang didapatkan semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak bawang putih dapat menghambat pertumbuhan biofilm pada *P. aeruginosa*.

Dari data OD, data dianalisis menggunakan uji statistik. Hasil uji *Saphiro-Wilk* dan *Levene's test* didapatkan bahwa $p > 0,05$. Hal ini menunjukkan data terdistribusi normal dan memiliki varian yang sama. Kemudian dilakukan uji *One Way ANOVA* dan didapatkan nilai signifikansi 0,000. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan, maka dilakukan uji lanjutan *LSD* yang ditunjukkan pada Gambar 1.

Untuk mengetahui besarnya nilai hambatan terkecil pada ekstrak bawang putih terhadap pembentukan biofilm, dilakukan uji regresi linier. Hasil uji regresi linier menunjukkan $\text{Sig.} = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti variabel x (konsentrasi) signifikan berpengaruh terhadap variabel y (% hambatan biofilm). Hasil uji regresi linier menunjukkan bahwa nilai a adalah $-7,542$ dan nilai b adalah $21,743$. Sehingga persamaan regresi yang didapatkan adalah $y = -7,542 + 21,743x$. Dari persamaan tersebut dimasukkan nilai $y = 0$ (% inhibisi minimal), sehingga didapatkan nilai $x = 0,3468$. Dapat disimpulkan

bahwa konsentrasi terkecil dari ekstrak bawang putih dalam menghambat pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* adalah pada konsentrasi $0,3468$ mg/mL.



Gambar 1. Rata-rata *Optical Density* (OD_{630nm}) biofilm *P. aeruginosa*. (*) $P < 0,05$ terhadap kontrol negatif; (**) $P < 0,001$ terhadap kontrol negatif; (+) $P < 0,05$ terhadap kontrol positif; (++) $P < 0,001$ terhadap kontrol positif.

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak bawang putih terhadap penghambat pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa*. Pada kelompok kontrol negatif yang berisi akuades tidak memiliki nilai inhibisi karena pada kelompok ini pertumbuhan biofilm tidak dihambat oleh H₂O. Kelompok kontrol negatif digunakan sebagai penanda bahwa bakteri yang tumbuh pada media MHB dapat meningkatkan pertumbuhan biofilm. Gambar 1 menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif dan dapat diketahui bahwa perlakuan yang diberikan pada kedua kontrol ini berbeda, sehingga OD yang dihasilkan berbeda pula. OD pada kontrol positif lebih rendah daripada kontrol negatif. Sehingga dapat diketahui bahwa semakin rendah OD maka pertumbuhan biofilm semakin rendah pula. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif yang berisi NAC 80 mg/mL dapat menekan pertumbuhan biofilm pada *P. aeruginosa*, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa NAC 80

mg/mL memiliki sifat bakterisidal pada beberapa bakteri, termasuk pada bakteri yang telah resisten [11]. Selain itu, NAC juga memiliki sifat sebagai agen antibiofilm yang kuat karena NAC dapat mengurangi pertumbuhan biofilm, menghambat adhesi bakteri, dan mengurangi produksi matriks ekso polisakarida [12].

Sebanyak 85,72% senyawa dalam bawang putih merupakan derivat organosulfur. Diharapkan senyawa organosulfur yang ada di dalam bawang putih, terutama *allicin* dan *ajoene*, dapat berperan sebagai agen antibiofilm pada *P. aeruginosa*. Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa nilai OD terendah terdapat pada kelompok P5 dan kelompok P1 merupakan kelompok perlakuan dengan nilai OD tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi bawang putih yang diberikan, maka nilai OD yang dihasilkan semakin rendah sehingga % inhibisi yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambat pembentukan biofilm semakin tinggi pula.

Jika kelompok P5 ($OD_{rata-rata}=0,096$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($OD_{rata-rata}=0,100$) terjadi peningkatan nilai rata-rata OD. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok P5 dengan konsentrasi 1,5 mg/mL ekstrak bawang putih memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan biofilm lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang berisi NAC 80 mg/mL. NAC dengan dosis 80 mg/mL seharusnya dapat menekan pertumbuhan biofilm bahkan hingga dapat bersifat bakterisidal, sehingga OD yang dihasilkan seharusnya lebih rendah daripada semua kelompok perlakuan. Hal ini disebabkan karena pada penelitian pencampuran NAC dengan akuades menggunakan *vortex* tidak dilakukan selama 2 menit, sehingga NAC masih menggumpal dan belum sepenuhnya larut dalam akuades. Pada akhirnya kemampuan NAC dalam menghambat pertumbuhan biofilm menjadi menurun. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pencampuran NAC dengan akuades menggunakan *vortex* dilakukan selama 2 menit [13].

Kemampuan *allicin* dan *ajoene* dalam menghambat pertumbuhan biofilm sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut dapat berperan sebagai *N-acyl homoserine lactone (AHL) analogue* [14]. AHL merupakan salah satu *autoinducer* yang dihasilkan oleh bakteri Gram negatif, seperti pada *P. aeruginosa* [15]. Oleh karena itu, kedua senyawa tersebut dapat berikatan dengan *AHL quorum sensing receptor* sehingga pembentukan biofilm dapat terhambat. Pada dasarnya, ketika proses *quorum sensing* terjadi maka komunikasi antar bakteri terjadi pula. Hal ini dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri pada biofilm yang telah terbentuk. Hal ini tidak terjadi jika pada proses pembentukan biofilm diberikan ekstrak bawang putih. Namun penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak bawang putih tidak menghilangkan biofilm yang sudah terbentuk, namun hanya dapat membuat biofilm yang mengalami defisiensi *quorum sensing* menjadi fragil atau mudah pecah. Sehingga penggunaan bawang putih sebagai agen antibiofilm perlu dikombinasikan dengan antibiotik lain supaya eradikasi terhadap bakteri *P. aeruginosa* menjadi lebih efektif [15].

Penelitian sebelumnya juga menjelaskan bahwa terdapat mekanisme yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan biofilm pada *P. aeruginosa*. Penurunan aktivitas *second messenger* pada bakteri, seperti c-di-GMP (*cyclic dimetric guanosine monophosphate*) dapat menekan pertumbuhan biofilm pada *P. aeruginosa*. Protein FleQ yang dihasilkan oleh *P. aeruginosa* yang berfungsi sebagai master regulator ekspresi gen pada flagella dapat menyebabkan terjadinya adhesi pada permukaan sel. Tidak hanya proses adhesi, ikatan antara protein FleQ dan c-di-GMP dapat menginisiasi pembentukan biofilm dan peristiwa-peristiwa morfogenesis sel lain yang meliputi proses transkripsi dan translasi pada *P. aeruginosa* [16]. Ketika kompleks FleQ dan c-di-GMP berikatan, maka terjadi proses regulasi ekspresi gen yang mempengaruhi terbentuknya ekso polisakarida pada biofilm, yaitu *pel* dan *psl*. Namun ketika terjadi penekanan aktivitas c-di-

GMP maka proses pembentukan eksopolisarida tersebut menjadi terhambat [17].

Data OD yang dihasilkan pada *microplate reader* kemudian diolah untuk mendapatkan nilai % inhibisi dari setiap kelompok. Kelompok P1 memiliki rata-rata inhibisi terendah yaitu -0,765 % dan P5 memiliki nilai rata-rata inhibisi tertinggi yaitu 26,886%. Tanda negatif pada rata-rata inhibisi kelompok P1 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,3 mg/mL, kandungan organosulfur yang ada di dalam bawang putih belum mampu menghambat pertumbuhan biofilm pada bakteri *P. aeruginosa*.

Pada pengukuran biofilm, metode menggunakan pewarnaan kristal violet sering digunakan sebagai metode tidak langsung dengan menggunakan *96-wells microtiter plates*. Kekurangan dari penggunaan metode ini adalah bahan kristal violet berikatan dengan seluruh permukaan molekul yang bermuatan negatif dan polisakarida yang terdapat pada matriks ekstraselular, termasuk sel yang masih hidup maupun yang sudah mati. Sehingga metode pewarnaan menggunakan kristal violet ini sulit untuk menentukan berapa jumlah biofilm yang mati [18]. Oleh karena itu, untuk mengetahui jumlah sel biofilm yang mati dan yang hidup dapat dilakukan dengan melakukan pengukuran menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM). Pengukuran menggunakan CLSM dapat mengetahui aktivitas penghambat biofilm baik secara kualitatif maupun kuantitatif, sehingga hasil yang didapatkan menjadi lebih akurat.

Simpulan dan Saran

Ekstrak metanol bawang putih (*Allium sativum*) dapat menghambat pembentukan biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Konsentrasi minimum bawang putih dalam menghambat pertumbuhan biofilm bakteri *P. aeruginosa* adalah 0,3468 mg/mL.

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengukuran aktivitas pertumbuhan biofilm menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) supaya dapat mengetahui secara kualitatif dan kuantitatif pertumbuhan biofilm yang terjadi. Selain itu, perlu dilakukan

purifikasi bahan aktif bawang putih, yaitu *allicin* dan *ajoene*, untuk mengetahui efek langsung bahan aktif sebagai agen antibiofilm. Untuk mengetahui efektifitas bawang putih perlu dilakukan kombinasi ekstrak bawang putih dengan antibiotik untuk mengetahui efektifitas bawang putih sebagai agen antibiofilm pada *P. aeruginosa*, dan perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* agar dapat diketahui efek bawang putih terhadap penghambat pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa*

Daftar Pustaka

- [1] FAO. Garlic: Post-Harvest Operation . Instituto Tecnológico de Veracruz. United States: Agricultural and Food Engineering Technologies Service; 2013.
- [2] Respati E, Hasanah L, Wahyuningsih S, Sehusman, Manurung M, Supriyati Y, et al. Buletin Konsumsi Pangan: Bawang Putih. Pusat Data dan Informasi Pertanian. 2014; 5(3): 31-37.
- [3] Khadri S, Boutefnouchet N, Dekhil M. Antibacterial Activity Evaluation Of Allium sativum Essential Oil Compared To Different Pseudomonas aeruginosa Strains In Eastern Algeria. St. Cerc. St. CICBIA. 2010; 11(4):421-428.
- [4] Zhai H, Pan J, Pang E, Bai B. Lavage with Allicin in Combination with Vancomycin Inhibits Biofilm Formation by Staphylococcus epidermidis in a Rabbit Model of Prosthetic Joint Infection. PLOS ONE. 2014; 9(7):1-5.
- [5] Wei Q, Ma LZ. Biofilm Matrix and Its Regulation in Pseudomonas aeruginosa. Int J Mol Sci. 2013; 2(14): 20983-21005.
- [6] Baker P, Hill PJ, Snarr BD, Alnabelseya N, Pestrak MJ, Lee MJ, et al. Exopolysaccharide biosynthetic glycoside hydrolases can be utilized to disrupt and prevent Pseudomonas aeruginosa biofilms. Sci Adv. 2016; 2: 1-3.
- [7] Kemenkes. Riset Kesehatan Dasar 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013.

- [8] CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. United States: Centers for Disease Control and Prevention. 2013.
- [9] Tolker-Nielsen. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: From molecular biofilm biology to new treatment possibilities. *Acta Pathologica, Microbiologica Et Immunologica Scandinavica*. 2013; 122: 10.
- [10] Crouzet M, Senechal CL, Brozel VS, Costaglioli P, Barthe C, Bonneau M, et al. Exploring early steps in biofilm formation: set-up of an experimental system for molecular studies. *BMC Microbiology*. 2014; 14: 253.
- [11] Aslam S, Darouiche RO. Role of antibiofilm antimicrobial agents in controlling device-related infections. *Int J Artif Organs*. 2011; 34(9): 762-768.
- [12] Dinicola S, Grazia SD, Carlomagno G, Pintucci JP. N-acetylcystein as Powerful Molecule to Destroy Bacterial Biofilms. A Systematic Review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014; 18(19):2942-8.
- [13] Claudio CR, Cindy HR, Rene HD, Sergio GR, Diana RP, del Socorro FGM. Rifampicin and N-acetylcysteyne Inhibit Oral Bacterial Growth and Biofilm Formation. *The Pharma Inovation J*. 2013; 2(3):16-23.
- [14] Brackman G, Coenye T. Quorum Sensing Inhibitors as Anti-Biofilm Agents. *Curr Pharm Des*. 2015; 21:5-11.
- [15] Priha O, Virkajarvi V, Juvonen R, Puupponen-Pimia R, Nohynek L, Alakurtti S, Pirttimaa M, et al. Quorum Sensing Signalling and Biofilm Formation of Brewery-Derived Bacteria, and Inhibition of Signalling by Natural Compounds. *Curr Microbiol*. 2014; 617-627.
- [16] Kim HS, Park HD. Ginger Extract Inhibits Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *Plos One*. 2013; 8(9):1-16.
- [17] Harwood CS, Baraquet C, Murakami K, Parsek MR. The FleQ Protein from *Pseudomonas aeruginosa* Function as Both a Repressor and an Activator to Control Gene Expression from the *pel* Operon Promoter in Response to c-di-GMP. *Nucleic Acid Res*. 2012; 1-12.
- [18] Pratiwi SUT, Lagendijk EL, Weert SD, Idroes R, Hertiani T, Hondel VD. Effect of *Cinnamomum burmannii* Nees ex Bl. and *Massoia aromatica* Becc. Essential Oils on Planktonic Growth and Biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* In Vitro. *Int J of Applied Res in Natural Products*. 2015; 8(2):1-13.