

Efektivitas Ekstrak Daun Bawang Dayak Sebagai Penghambat Biofilm pada bakteri *Escherichia coli*

(*Effectiveness Of Dayak Onion Leaf Extract As A Biofilm Inhibitor On Bacteria Escherichia coli*)

Ani M. Hasan^{1*}, Alfandi kibu², Riskanarti K. Lihawa³

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo,

Jl. Prof. Dr. Bj Habibie, Tilongkabila, Bonebolango, Provinsi Gorontalo, Indonesia

Email : animhasan@ung.ac.id*

Info artikel:

Diterima:

18/07/23

Direview:

12/09/23

Diterbitkan:

21/10/23

Abstrak

Escherichia coli merupakan flora normal pada saluran pencernaan tetapi mempunyai potensi menimbulkan penyakit *E. coli* menjadi patogen jika jumlahnya dalam saluran pencernaan meningkat seperti mengkonsumsi air maupun makanan yang terkontaminasi atau masuk ke dalam tubuh dengan sistem kekebalan yang rendah seperti pada bayi, anak, lansia dan orang yang sedang sakit. Beberapa strain *E. coli* seperti EPEC dan ETEC bersifat patogenik maupun toksigenik sehingga pertumbuhannya harus dihambat biofilm adalah komunitas mikroorganisme yang terdiri dari sel-sel mikroba yang terhubung satu sama lain dalam matriks yang diproduksi sendiri yang terbentuk dari komponen polimer ekstraseluler pada atau dalam organisme inang. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk melihat apakah ekstrak daun bawang dayak dapat menghambat biofilm pada bakteri *Escherichia coli* metode yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr) dan menggunakan larutan etanol 70% . Metode ekstraksi daun bawang Dayak yang digunakan adalah infusa (metode panas). Hasil yang didapatkan bahwa ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr) dengan volume 2ml *Escherichia coli* mampu menghambat pembentukan biofilm pada bakteri *Escherichia coli*

Kata kunci : daun bawang dayak, biofilm, *Escherichia coli*, penghambatan

Abstract

Escherichia coli is a normal flora in the digestive tract but has the potential to cause *E. coli* to become a pathogen if the amount in the digestive tract increases, such as consuming contaminated water or food or entering the body with a low immune system, such as in infants, children, the elderly and the elderly. who is sick. Several strains of *E. coli* such as EPEC and ETEC are both pathogenic and toxigenic, so their growth must be inhibited (Jawetz E, et al. 2013). Biofilms are communities of microorganisms consisting of microbial cells connected to each other in a self-produced matrix formed from extracellular polymeric components on or within the host organism. The purpose of this research is to see whether the extract of Dayak leeks can inhibit biofilms on *Escherichia coli* bacteria. The extract methods for Bawang Dayak is Infusa method. The results showed that the extract of leek dayak with a volume of 2 ml of *Escherichia coli* was able to inhibit the formation of biofilms on *Escherichia coli* bacteria.

Keyword : leek dayak, biofilm, *Escherichia coli*, inhibition

I. PENDAHULUAN

Escherichia coli adalah bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan. *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi pada traktus urinarius, juga dapat menyebabkan meningitis pada bayi prematur dan neonatal. Strain enteropatogenik *Escherichia coli* sering menyebabkan diare akut pada anak-anak di bawah umur 2 tahun dan juga penyebab infeksi paru-paru dan infeksi saluran pada kemih. Diare merupakan salah satu penyakit infeksi saluran pencernaan yaitu infeksi gastrointestinal, yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Fiqriah, 2014).

Biofilm adalah komunitas mikroorganisme yang terdiri dari sel-sel mikroba yang terhubung satu sama lain dalam matriks yang diproduksi sendiri yang terbentuk dari komponen polimer ekstraseluler pada atau dalam organisme inang. Biofilm dapat tumbuh di hampir semua permukaan atau di lingkungan apa pun di mana bakteri berada. Keadaan film dibuat oleh kombinasi bakteri permukaan dengan zat organik atau anorganik yang ada. Substrat, baik biologis maupun anorganik, naik ke atas saat berdifusi ke atas atau dibawa oleh arus cair. Biofilm memiliki kemampuan yang lebih baik untuk mengirimkan nutrisi daripada cairan (Reimann, 2006; Jamal, 2015.).

Bahaya yang dapat disebabkan oleh biofilm terhadap kesehatan manusia diantaranya, apabila sel biofilm lepas dari permukaannya dapat menimbulkan infeksi pada aliran darah dan traktus urinarius. Bakteri Gram negatif terutama *Escherichia coli* dapat membentuk biofilm dan memproduksi endotoksin yang dapat mengurangi respon imun pada tubuh. Bakteri yang dapat

membentuk biofilm ini juga biasanya resisten terhadap antibiotik maupun respon imun tubuh (Fadhila & Sari, 2019).

Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr) merupakan bagian dari keanekaragaman hayati yang ada di Kalimantan Timur. Hasil penelitian terdahulu terhadap skrining fitokimia bahwa umbi Bawang Dayak mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut dapat berperan sebagai antibakteri (Puspawati, R. Dkk. 2013). Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr) sudah lama dimanfaatkan berbagai kalangan masyarakat sebagai obat alternatif karena mudah diperoleh dan harganya relatif murah dan tanaman ini mudah diperoleh masyarakat luas. Salah satunya Pada wilayah Gorontalo pemanfaatan bawang dayak sudah disebar luaskan melalui kegiatan PKM Pemberdayaan Masyarakat terutama di Desa Paris Mootilango Gorontalo dengan tujuan untuk menambah pengetahuan dan keterampilan warga Kecamatan Mootilango dalam budidaya bawang dayak dan pembuatan teh bawang dayak sebagai kesehatan (Dwinurmala *et al.*, 2019).

Daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr) mengandung banyak zat yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti senyawa bioaktif yang dapat menghambat pembentukan biofilm dan sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan Kumalasari *et al.*, (2020) pada penelitiannya ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr) memiliki kandungan senyawa sebagai antibakteri. Senyawa tersebut adalah flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid.

Flavonoid sebagai antibakteri adalah menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom, Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu stabilitas membran sel dan menyebabkan keluarnya komponen penting dalam sel bakteri yaitu protein dan asam nukleat, Mekanisme tanin sebagai antibakteri dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati, dengan senyawa ini dapat dipastikan pertumbuhan dari biofilm yang akan di bentuk oleh *Escherichia coli* akan terhambat. Dan terakhir terdapat Alkaloid yang berfungsi sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk dan menyebabkan kematian.

Berdasarkan uraian di atas, maka penting untuk mengembangkan dan memanfaatkan kandungan daun bawang dayak sebagai penghambat biofilm pada bakteri *Escherichia coli*, mengingat adanya peningkatan kasus infeksi bakteri yang sulit diobati dan resisten terhadap antibiotik konvensional.

II.METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan IPA. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Maret 2023

3.1 Jenis Penelitian

Pendekatan penelitian yang digunakan yaitu pendekatan metode kualitatif. Pendekatan kualitatif merupakan pendekatan yang lebih menekankan pada aspek pemahaman secara mendalam terhadap suatu masalah daripada melihat permasalahan untuk melihat generalisasi. Penelitian ini menggunakan metode kualitatif dan data dianalisis secara deskriptif

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang di perlukan dalam penelitian ini berupa *Microplate reader*, Mikropipet Kain kasa/saringan kopi Kompur, Blender, Gelas ukur, *Incubator mortar*, *Leminar air flow*. dan untuk bahan yang digunakan berupa Daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia Merr*), Etanol 70% dan 96%, Bakteri *Escherichia coli*, Ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia Merr*), Kristal violet, Akuades

3.3 Prosedur kerja

1). Pembuatan ekstrak daun bawang dayak dengan metode infusa (metode panas)

Siapkan daun bawang dayak yang segar dan bersih. Cuci daun bawang dayak dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran atau residu lainnya. Potong daun bawang dayak menjadi potongan-potongan yang lebih kecil agar lebih mudah digerus. Siapkan alat penggiling seperti blender, mortar dan alu. Pastikan alat penggiling tersebut bersih dan kering. Letakkan potongan daun bawang dayak ke dalam alat penggiling. Giling daun bawang dayak sampai halus. Setelah digiling, Saring menggunakan saringan sampai terpisah antara

bubuk yang sudah halus dan yang masih kasar. Selanjutnya masukan kedalam dandang yang sudah berisi air yang sudah di panaskan. Kemudian di aduk selama 15 menit, tiriskan menggunakan kain saring sampai mendapatkan zat ekstraksi yang lebih kental. Zat ekstraksi tersebut di masukan kedalam wajan dengan suhu 60°C, di aduk sampai zat tersebut mengental atau berubah warna. Langkah terakhir, di angkat dan di letakan di botol vial

2). Uji penghambat biofilm dengan pengamatan mikroskopik

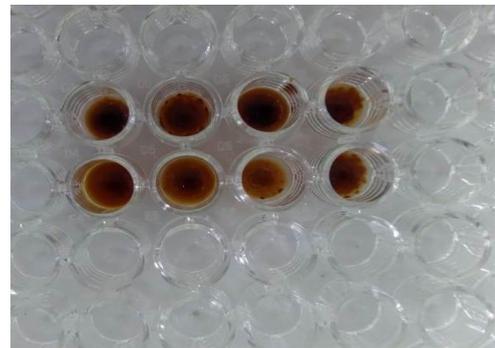
Teteskan sebanyak 20 mikroliter suspensi bakteri *Escherichia coli* dan sampel uji ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia L. Merr*) kedalam mikrotiter plat. Selanjutnya, mikrotiter plat di masukan kedalam inkubator dan dilakukan tahap inkubasi di suhu 37°C selama 24 jam untuk pembentukan biofilm fase pertengahan. Selanjutnya, plat di cuci menggunakan air sebanyak 3 kali dan dikeringkan pada suhu kamar selama 5 menit untuk menghilangkan sisa-sisa air. Sebanyak 125uL larutan kristal violet dengan konsentrasi 0,1 % ditambahkan kedalam tiap well untuk mewarnai biofilm yang telah terbentuk baik sel mati maupun sel hidup yang juga merupakan komponen penyusun biofilm. Selanjutnya plat di inkubasi pada suhu kamar selama 15menit. Mikro plat dicuci sebanyak 3 kali untuk membersihkan sisa kristal violet. Selanjutnya ditambahkan

200uL etanol 96% kedalam tiap well untuk melarutkan biofilm yang terbentuk. Selanjutnya dilakukan pembacaan optical density dilakukan dengan microplate reader pada panjang gelombang 595 nano meter.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

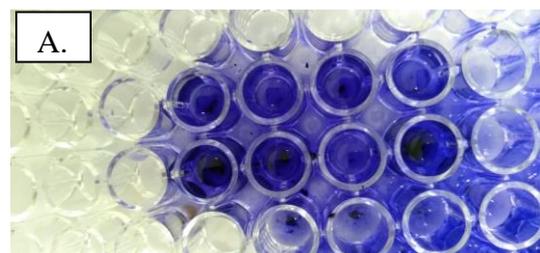
4.1 Hasil

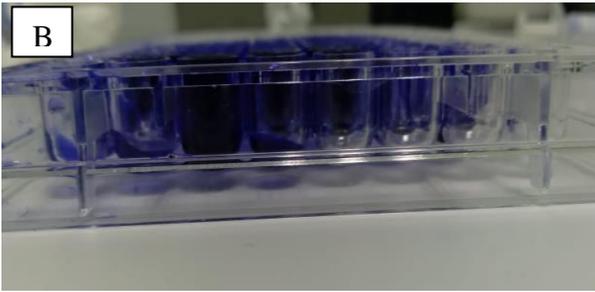
Pembentukan dan evaluasi penghambatan biofilm dilakukan dengan metode *microtiter plate* untuk mengevaluasi biofilm yang dibentuk oleh *Escherichia coli*. dengan penambahan ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia L. Merr*) sebanyak 2 ml pada setiap well



Gambar 1. Suspensi bakteri *Escherichia coli* dan sampel uji ekstrak daun bawang dayak(*Eleutherine palmifolia L. Merr*) pada mikrotiter plat.

Suspensi bakteri *Escherichia coli* di ambil sebanyak 20 mikroliter dengan konsentrasi 0,1 % dimasukkan kedalam mikrotiter plat dengan di tambahkan sampel uji berupa ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia L. Merr*) sebanyak 2 ml dengan konsentrasi 0,1 %





Gambar 2. A). hasil pelekatan kristal violet 0,01 mil pada suspensi bakteri *Escherichia coli*. B). Tampak samping pelekatan kristal violet pada suspensi bakteri *Escherichia coli*.

Suspensi bakteri *Escherichia coli* yang telah di inkubasi 24 jam ditambahkan kristal violet 0,01 mil dengan konsentrasi 0,1 %. Di dapatkan hasil pelekatan pada dinding. Sumuran yang berwarna ungu merupakan representatif terbentuknya biofilm mikroba.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia Merr*) terdapat nilai volume dari ekstrak tersebut 2 mL. Pada penelitian ini digunakan metode *microtiter plate* untuk pembentukan dan evaluasi penghambat biofilm, pengevaluasian pada biofilm yang dibentuk oleh bakteri *Escherichia coli*, suspensi bakteri dimasukkan kedalam masing-masing sumuran (*microtiter wells*) dan dicampurkan dengan sampel uji. *microtiter wells* di inkubasi selama 24 jam dan setelah diinkubasi selama waktu yang ditentukan, sumuran dicuci dan diberi warna dengan kristal violet 0,1%, jika terbentuk warna ungu yang tidak tercuci maka banyaknya zat warna yang terikat diasumsikan sama dengan banyaknya biofilm mikroba pada sumuran (O'toole, 2011).

Gambar diatas menunjukkan bahwa sumuran yang berwarna ungu sebagai wujud terbentuknya biofilm mikroba, yaitu *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri *motile* atau bakteri yang banyak bergerak pada hasil yang di dapatkan warna kristal violet tidak menetap pada satu permukaan dinding tetapi ikut menyebar dan akan berpusat pada permukaan atas sumuran, hal ini membuktikan suspensi bakteri dapat bergerak. Menurut (Kim *et al.*, 2015; O'Toole., 2011) bakteri yang melakukan pergerakan banyak biasanya akan terpusat pada permukaan atas sumuran. Selain itu, sebagai bakteri anaerob fakultatif, biofilm yang terbentuk cenderung membentuk pola cincin pada permukaan sumuran yang mendedikasikan tetap adanya kecenderungan kebutuhan terhadap oksigen.

Terbentuknya dan stabilnya zat warna kristal violet pada pengamatan biofilm pada dasarnya mengikuti mekanisme pengecatan Gram pada umumnya. Selain itu juga, pengecatan tersebut bergantung pada bakteri yang bermuatan Gram negatif atau yang bermuatan positif, pada bakteri Gram positif dinding selnya tersusun atas peptidoglikan dimana terdapat senyawa yang disebut dengan asam teikoat. Sedangkan pada bakteri Gram negatif mengandung peptidoglikan dalam jumlah yang jauh lebih sedikit, akan tetapi dibagian luar peptidoglikan tersebut memiliki membran luas yang tersusun atas lipoprotein dan fosfolipid, serta mengandung lipolisakarida (Rini & Rochman, 2020)

Salah satu cara untuk mengklasifikasikan bakteri adalah dengan pewarnaan Gram, dimana bakteri pada umumnya dibagi antara Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram negatif akan kerap menghasilkan warna merah sedangkan Gram positif akan menghasilkan warna ungu (NauE, *et al.*, 2022). Menurut Yuniarti & Misbach (2016) menyatakan bahwa pewarnaan Gram merupakan salah satu prosedur yang paling banyak dilakukan untuk mencirikan bakteri, dari pewarnaan Gram tersebut dapat diketahui morfologi sel antara lain seperti sifat Gram, bentuk sel, dan penataan sel. Fungsi pewarnaan bakteri terutama memberi warna pada sel atau bagian-bagiannya, sehingga menambah kontras dan tampak lebih jelas. Pewarnaan Gram adalah salah satu teknik pewarnaan yang paling penting dan luas yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Dalam proses ini, olesan bakteri yang sudah terfiksasi dikenai dengan larutan-larutan sebagai berikut : zat pewarna kristal violet, larutan yodium, larutan alkohol (Bahan pemucat) dan zat pewarna tandingannya berupa zat safranin atau air fuchsin. Bakteri yang terwarnai jika termasuk Gram positif akan mempertahankan zat pewarna kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan zat pewarna air fuchsin atau safranin (Susanto, 2016).

V. KESIMPULAN

Dari hasil yang telah didapatkan dapat disimpulkan untuk ekstrak daun bawang dayak yang digunakan sebanyak 2ml dapat menghambat biofilm yang di bentuk oleh bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dibuktikan dengan Stabilnya warna

ungu pada sumuran well yang memanipulasi pembentukan biofilm oleh bakteri

V. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada instansi-instansi yang telah memberikan izin dalam pelaksanaan riset tentang uji hambat dari ekstrak daun bawang dayak sebagai penghambat biofilm pada *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ariyanti, N.K., Darmayasa, I. B. G., Budirga, B.K., 2012, Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Miller) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922, Jurnal Biologi, Halaman 1-4.
- [2] Fiqriah, A.A. (2014). Efek Kombinasi Fraksi Diterpen Lakton dari *Sambiloto* (*Andrographis paniculata* Nees) dan Doksorubisin Terhadap Gambaran Histopatologi Hati, Ginjal dan Jantung Serta Enzim SGOT dan SGPT Mencit (*Mus musculus*). [Skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- [3] Hayati, E.K., et al., 2010, Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L), Jurnal Kimia, Vol.4 No.2, Juni 2010:193-200.
- [4] Jawetz, Melnick, dan Adelberg, s., 2010, Mikrobiologi Kedokteran, Ed 25, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

- [5] Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF. Mikrobiologi kedokteran (terjemahan). Edisi ke-25. Jakarta: EGC; 2013.
- [6] NauE, D. B., Karneli, Syailendra, A., Syafitri, I., Wulandari, S., & Julianti, W. (2022). Buah BIT (*Beta vulgaris L.*) Sebagai Alternatif Safranin Pada Pewarnaan Gram. *Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan*, Vol 24(12), 19-24.
- [7] Kim, H.-S., Lee, S.-H., Byun, Y., & Park, H.-D. (2015). 6-Gingerol reduces *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and virulence via quorum sensing inhibition. *Scientific reports*, 5.
- [8] O'Toole, G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of visualized experiments: JoVE*(47).
- [9] Radji, M., 2011, Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- [10] Susanto, H. (2016). Pemeriksaan Protozoa, Helminthes. Depok : PPPPTK Bisnis dan Pariwisata .
- [11] Wardhani, L.K., Sulistyani N., 2012, Uji Aktivitas Antibakteri Etil Asetat Daun Binahong Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromotografi Lapis Tipis, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Vol.2 No.1: 1-16.
- [12] Yuniarty, T., & Misbach, S. R. (2016). Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas poitret*) Sebagai Bahan Zat Pewarna Pada Pewarnaan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, Vol 5(2), 59-63.
- [13] Zakki, G.I., 2015, Pengetahuan dan Perilaku Preventif Terhadap Bakteri *E-Coli* Pada Masyarakat Kecamatan Gondomanan di Kota Yogyakarta, *Skripsi*, Jurusan Psikologi Fakultas Ilmu Pendidikan Universitas Negeri Semarang, Semarang.