

Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Bawang Hitam Terhadap *Biomass Biofilm*

Pseudomonas aeruginosa

Skripsi

untuk memenuhi Sebagian persyaratan guna
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Sedaynanda Mey Rachella C

30102000171

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG

2024

SKRIPSI

Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Bawang Hitam Terhadap *Biomass Biofilm*

Pseudomonas aeruginosa

Yang telah dipersiapkan dan disusun oleh

Sedaynanda Mey Rachella Choidir

30102000171

telah dipertahankan di depan Dewan
penguji pada tanggal 31 Juli 2024
dan dinyatakan telah memenuhisyarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

(dr. Masfiah. Sp.MK.Msi.Med)

Anggota Tim Penguji

(dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si.Med)

Pembimbing II

(dr.Rahayu., Sp.MK., M.Biomed)

(Dr. Suparni.S.Si.M.Si.(ERT)

Semarang, 31 Juli 2024

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



(Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Sedaynanda Mey Rachella Choidir

NIM : 30102000171

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Bawang Hitam Terhadap *Biomass Biofilm*
*Pseudomonas aeruginosa***

adalah hasil karya skripsi saya dan dengan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Semarang, 31 Juli 2024

Yang menyatakan,



Sedaynanda Mey Rachella C

PRAKATA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah puji Syukur penulis mengucapkan kehadiran Allah SWT berkat limpahan serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Bawang Hitam Terhadap *Biomass* Biofilm *Pseudomonas aeruginosa*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Selama penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari pantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Masfiah. Sp.MK,Msi.Med dan dr.Rahayu., Sp.MK., M.Biomed selaku dosen pembimbing I dan II atas ide, bimbingan dan arahan dalam penyelesaian skripsi ini.
3. dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si.Med dan Dr. Suparmi.S.Si.M.Si.(ERT) selaku dosen penguji I dan II atas masukan dan pengarahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Yufrita laksianingtyan, AAK dan Bu Eva Lutfiana, AMAK., selaku analis laboratorium Mikrobiologi dan laboratorium Farmakologi FK UNISSULA yang telah membantu dan membimbing peneliti dalam melakukan uji.

5. Bapak Khodir dan Ibu Sofiah selaku orang tua saya yang telah mendukung dan mendoakan saya dalam perjalanan menyelesaikan skripsi.
6. Semua pihak yang telah membantu terselesainya skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa, berkenan membalas semua kebaikan serta bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna mengingat keterbatasan penulis. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca, civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang, masyarakat, dan menjadi salah satu sumbangan untuk dunia keilmiahan dan kedokteran.

Semarang, 21 Juli 2024

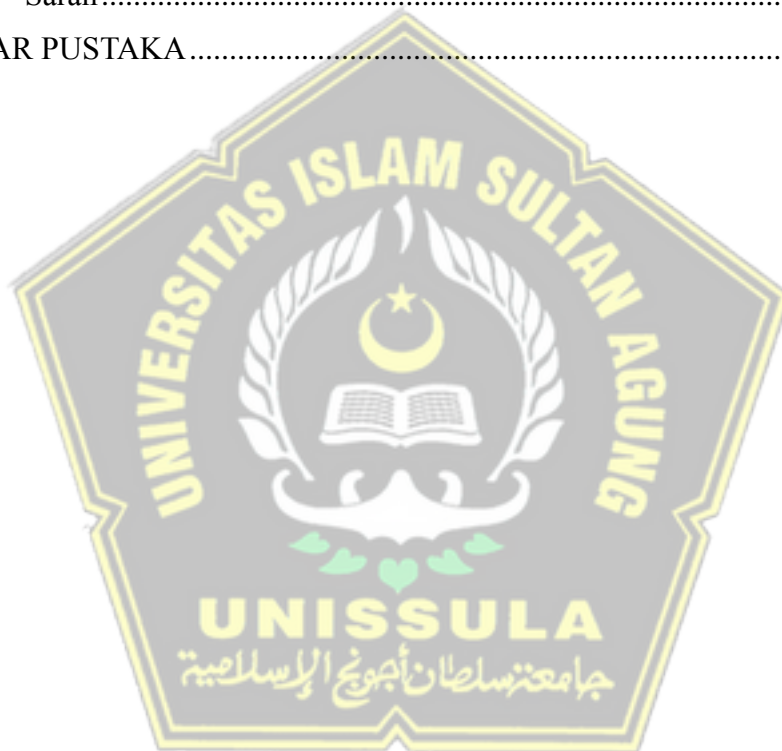
Penulis

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan Skripsi	i
PRAKATA.....	ii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR SINGKATAN	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI.....	xii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Pseudomonas aeruginosa.....	5
2.1.1 Taksonomi Pseudomonas aeruginosa	5
2.1.2 Deskripsi	5
2.1.3 Morfologi	5
2.1.4 Pertumbuhan dan Perkembangan.....	6
2.1.5 Patogenesis.....	7
2.2 Biofilm.....	7
2.2.1 Pengertian Biofilm	7

2.2.2	Pertumbuhan Biofilm.....	8
2.2.3	Resistensi Terhadap Antibiotik.....	10
2.3	Bawang Putih Hitam	10
2.3.1	Deskripsi	10
2.3.2	Taksonomi Bawang Putih	11
2.3.3	Kandungan Bawang Hitam	11
2.4	Ulkus Diabetikum	12
2.4.1	Definisi.....	12
2.4.2	Patofisiologi Ulkus Diabetikum.....	12
2.5	Cara Kerja Kandungan Bawang hitam.....	13
2.6	<i>Optical Density</i>	14
2.6.1	Definisi.....	14
2.7	Kerangka Teori.....	16
2.8	Kerangka Konsep.....	16
2.9	Hipotesis.....	16
BAB III	17
METODE PENELITIAN	17
3.1	Jenis Penelitian dan Rencana Penelitian	17
3.2	Variable dan Definisi Oprasional.....	17
3.2.1	Variabel.....	17
3.2.2	Definisi Operasional.....	17
3.3	Populasi dan Sample	18
3.4	Alat dan Bahan Penelitian	18
3.4.1	Alat penelitian	18
3.5	Cara Penelitian	19
3.5.1	Persiapan Sampel Ekstrak Bawang Hitam.....	19
3.5.2	Uji Biofilm	20
3.6	Alur Penelitian.....	24
3.6.1	Tahap pertama	24
3.6.2	Tahap Kedua	24
3.2.8	Tahap Ketiga	25
3.7	Tempat dan Waktu	27

3.8 Analisis Hasil.....	27
BAB IV	28
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1 Hasil Penelitian.....	28
4.2. Pembahasan	32
KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
5.1 Kesimpulan.....	34
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36



DAFTAR SINGKATAN

EPS : *Extracellular Polymeric Substance*

VAP : *Ventilator Associated Pneumonia*

LPS : *Lipopolysaccharide*

SAC : *S-allylcysteine*

DNA : *Deoxyribo Nucleic Acid*

eDNA : *Ectracellular Deoxyribo Nucleic Acid*

Pel : *Polysacchaqinride Encoding Locus*

Psl : *Polysaccharide Synthesis Locus*

PBS : *Phosphate Buffered Saline*

OD : *Optical Density*



DAFTAR TABEL

Table 4.1 Hasil perhitungan kekuatan biofilm.....	29
Table 4.2 Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	32
Table 4.3 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i>	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Gambar 2.2 Tahap pembentukan biofilm	8
Gambar 2.3 Biofilm polimikrobial tumbuh pada permukaan <i>stainless steel</i>	9
Gambar 2.4 Bawang hitam	11
Gambar 2.5 Kerangka teori	15
Gambar 2.6 Kerangka konsep.....	15
Gambar 4.2 <i>Microtiter 96 Wells Plates</i>	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearence</i>	40
Lampiran 2. Surat izin Penelitian	41
Lampiran 3. Surat Selesai Penelitian	42
Lampiran 4. Surat Keabsahan Bakteri	43
Lampiran 5. Analisis Hasil	56
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian	59
Lampiran 7. Surat Bebas Laboratorium	62
Lampiran 8. Surat Undangan Seminar Hasil	63



INTISARI

Resistensi antimikroba merupakan salah satu penyakit yang sering dialami oleh pasien diabetes mellitus akibat pembentukan biofilm pada luka ulkus. Oleh karena itu, diperlukan agen antibiofilm sebagai antibakteri, salah satunya *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak bawang hitam terhadap biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa*.

Penelitian eksperimental menggunakan desain *posttest only control group*. Efek ekstrak bawang hitam terhadap menghambat pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa* dianalisa menggunakan *microtiter plate biofilm assay*. Penelitian ini menggunakan 7 kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak bawang hitam yaitu, 0,3 mg/ml; 0,6 mg/ml; 0,9 mg/ml; 1,2 mg/ml; 1,5 mg/ml; kontrol positif dan kontrol negatif. Bakteri yang digunakan yaitu dari isolat klinik pada pasien ulkus diabetikum yang dirawat di RSI Sultan Agung Semarang dengan kepekatan 0,5 Mc Farland. Biomassa biofilm merupakan nilai *optical density* (OD) pada panjang gelombang 630 nm yang diukur menggunakan *elisa reader*.

Rerata biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* konsentrasi ekstrak bawang hitam konsentrasi 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; dan 1,5 mg/ml adalah 0,12±SD; 0,10±SD; 0,09±SD; 0,09±SD; dan 0,09±SD. Kekuatan biofilm pada masing-masing konsentrasi 0,9757; 0,7471; 0,6972; 0,7026; 0,6794; dan 17,3556. Kekuatan biomassa biofilm yang diberi ekstrak bawang hitam lebih rendah dibandingkan kontrol positif yang mempunyai biomassa biofilm yang kuat. Kekuatan paling lemah dimiliki oleh konsentrasi 1,5 mg/ml.

Ekstrak bawang hitam berpengaruh terhadap biomassa biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dimana semakin tinggi konsentrasi maka biomassa biofilmnya semakin rendah. Konsentrasi ekstrak bawang hitam 1,5 mg/ml menunjukkan kekuatan penghambatan biofilm paling tinggi.

Kata kunci : Biomassa biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*, ekstrak bawang hitam.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Biofilm merupakan sekumpulan bakteri pemicu berbagai penyakit yang menempel pada suatu permukaan biologis ataupun non-biologis dan dapat membuat koloninya sendiri (Nuryastuti *et al.*, 2023). Zat yang dihasilkan saat pembentukan biofilm adalah zat polimer ekstraseluler (EPS) berfungsi sebagai pelekat antar sel sehingga dapat lebih mudah untuk mengikat bakteri (Purbowati, 2018). Bakteri yang mudah berkembang menjadi biofilm kurang dari 24 jam salah satunya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang berbeda dengan bakteri lainnya, bakteri ini bisa tumbuh di dalam kondisi aerob, anaerob, dan dapat tumbuh dalam kondisi yang minim nutrisi (Luqman dan Alami, 2021, Gunardi, 2017). Penelitian tentang biofilm di Indonesia masih belum banyak dilakukan sehingga kegagalan terapi sering dihubungkan dengan kemampuan bakteri menghasilkan biofilm. Penggunaan antibiotik dalam beberapa kasus kemungkinan dapat mengurangi biofilm namun tidak menghilangkan biofilm, selain itu penggunaan antibiotik dapat menimbulkan efek samping.

Pseudomonas aeruginosa tahan di berbagai kondisi membuat bakteri ini resisten terhadap antibiotik. (Luqman dan Alami, 2021). Biofilm memungkinkan bakteri untuk bertahan pada kondisi tidak bersahabat seperti kekurangan nutrisi, kekurangan oksigen, maupun faktor-faktor lain yang

dibutuhkan untuk pertumbuhan. Adanya biofilm menyebabkan infeksi menjadi kronik dan menelan biaya yang besar dalam perawatan.

Bahan yang banyak dipercaya sebagai antibakteri salah satunya adalah bawang putih (*Allium sativum*). Bawang putih memiliki fungsi sebagai antikanker, antifungi, antibakteri, antivirus dan masih banyak lagi (Ryu dan Kang, 2017). Bawang putih memiliki berbagai kandungan seperti, *alliin*, *allicin*, *ajoene*, berbagai macam enzim, vitamin B, mineral dan flavonoid. Kandungan utama yang terkandung seperti *alliin* dan *derivate organosulfur* lainnya seperti *allicin*, *ajoene*, dan *allyl methyl sulfide* memiliki persentase yang besar dalam total kandungan senyawa yang terkandung di bawang putih. Sebanyak 85,72% senyawa *devirat organosulfur* dan *alliin* yang terkandung dalam bawang putih berperan sebagai antibiofilm pada *Pseudomonas aeruginosa* (Khadri, Boutefnouchet dan Dekhil, 2010). Bawang hitam adalah pemanasan bawang putih dengan suhu rendah selama beberapa hari hingga warnanya berubah menjadi coklat kehitaman dan tekstur menjadi lebih lembut. Bawang hitam mengandung kandungan *allicin* sebagai antibiofilm yang lebih besar dan lebih stabil dibandingkan dengan bawang putih biasa.

Berdasarkan latar belakang di atas penelitian tentang efektivitas ekstrak bawang hitam sebagai antibiofilm *Pseudomonas aeruginosa* perlu untuk dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang disusun adalah apakah ekstrak bawang hitam dapat menghambat pembentukan biofilm dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak bawang hitam terhadap biomass biofilm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- i. Mengetahui biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 0,3 mg/ml.
- ii. Mengetahui biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 0,6 mg/ml.
- iii. Mengetahui biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 0,9 mg/ml.
- iv. Mengetahui biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 1,2 mg/ml.
- v. Mengetahui biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 1,5 mg/ml.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Diharapkan penelitian ini dapat menambah pengetahuan mengenai biofilm secara lebih luas dan ekstrak bawang hitam yang dapat digunakan untuk penghambatan biomassa biofilm.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.1 Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

2.1.2 Deskripsi

Pseudomonas merupakan bakteri yang termasuk dalam golongan gram negatif, memiliki bentuk bakteri batang atau kokus, dan flagel polar. *Pseudomonas* mempunyai kemampuan tumbuh dalam kondisi ekstrem pada suhu 4°C atau dibawah suhu 43°C dan bakteri ini banyak ditemukan di tanah, air, ataupun udara (Suyono dan Farid, 2011).

2.1.3 Morfologi

Pseudomonas aeruginosa yang termasuk dalam gram negatif memiliki ukuran yang sangat kecil dan ramping 1,5-3 x 0,5 µm, yang Bergeraknya menggunakan flagel (Gambar 2.1). Bakteri ini tidak memiliki kapsul namun memiliki lapisan yang berlendir yang akan

membentuk menjadi kapsul sebagai tempat berlindung para koloni mikrobasil. Bakteri ini dapat muncul dalam bentuk Tunggal, berpasangan atau kadang-kadang dalam bentuk rantai (Jawetz, Melinick dan Aldeberg, 2008).



Gambar 2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.4 Pertumbuhan dan Perkembangan

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat hidup dalam berbagai lingkungan dan kondisi, sehingga untuk pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* memerlukan media untuk pengembangannya. Media dalam pengembangbiakan *Pseudomonas aeruginosa* dapat menggunakan berbagai jenis media salah satunya adalah medium *Mac Conkey* yang dapat membentuk koloni yang jernih. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan pigmen khas *pyocyanin* (biru-hijau) yang larut dalam agar dan didistribusikan ke dalam media perbenihan.

2.1.5 Patogenesis

Pseudomonas aeruginosa yang dapat tumbuh dalam medium apapun dan mudah dikembang biakan biasanya menghasilkan bau yang manis, bakteri ini juga mengeluarkan warna fluoresesin kehijauan dan menghasilkan piosianin (pigmen kebiru-biruan) (Jawetz, Melnick dan Aldeberg, 2008). Sumber lain menyatakan *Pseudomonas aeruginosa* menyerang pada inang yang memiliki kelemahan pada imun seperti, PPOK, fibrosis kistik, kanker, trauma, luka bakar, sepsis, dan pneumonia akibat ventilator (VAP).

Bakteri yang melekat pada individu dan dapat menyebabkan inflamasi pada berbagai organ yang akan menimbulkan penempelan bakteri, perlekatan, dan pengenalan oleh reseptor inang, hal ini disebabkan oleh bakteri yang menempel akan menginduksi liposakarida (LPS) dan endotoksikasi lipid A pada LPS yang akan menimbulkan respon tersebut. Protein membran luar (OMPs) berfungsi sebagai metabolisme nutrisi, adhesi, dan resistensi antibiotik. Selain itu resistensi obat dipengaruhi oleh pembentukan biofilm sehingga dikaitkan dengan flagel bakteri, pili, dan adhesi yang lainnya (Qin *et al.*, 2022).

2.2 Biofilm

2.2.1 Pengertian Biofilm

Biofilm merupakan kumpulan koloni kuman yang membentuk matriks ekstraseluler untuk melindungi kehidupan dibawah matriks

tersebut. Pembentukan matriks dilakukan untuk melindungi bakteri dari paparan antibakteri yang diberikan oleh inangnya (Homonta, 2016).

2.2.2 Pertumbuhan Biofilm

Pelekatan biofilm melalui beberapa lima tahap yaitu, *reversible attachment*, *irreversible attachment*, *maturation-I*, *maturation-II*, dan *dispersion* atau *deteachment* (Gambar 2.2)(Sauer *et al.*, 2022). Pelekatan bakteri untuk menjadi biofilm memerlukan waktu beberapa hari sampai dengan minggu sesuai dengan siklus pertumbuhan bakteri yang menempel.



Gambar 2.2. Tahap Pembentukan Biofilm

Tahap pembentukan biofilm :

1. *Reversible attachment*

Tahap *reversible attachment* merupakan tahap bakteri menempel pada substrat melalui flagel (Sauer *et al.*, 2022).

2. *Irreversible attachment*

Tahap selanjutnya bakteri yang sudah menempel akan berkembang dan ditandai dengan laju pembalikan *flagella*, penurunan eksresi gen flagel, dan produksi komponen matriks biofilm (Sauer *et al.*, 2022).

3. Maturasi-I

Maturasi-I merupakan tahap pematangan biofilm dengan ditandai adanya penebalan beberapa sel dan tertanam menjadi biofilm (Sauer *et al.*, 2022).

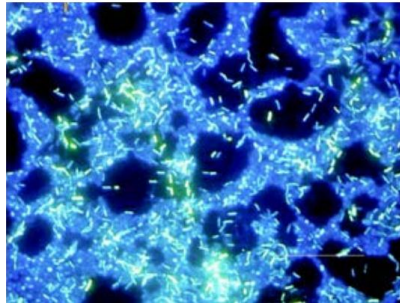
4. Maturasi-II

Tahap dimana bakteri matang sepenuhnya menjadi mikrokoloni (Sauer *et al.*, 2022).

5. Dispersi sel

Proses dimana biofilm yang tidak bergerak akan terlepas dan terbungkus matriks keluar dari biofilm. Tahap ini juga proses penyebaran benih untuk membentuk biofilm yang baru (Sauer *et al.*, 2022).

Bakteri yang sudah menempel pada suatu permukaan akan menghasilkan *extracellular polymeric substance* (EPS) yang akan melindungi bakteri dari paparan reagen lain. EPS yang terbentuk mencakup lebih besar dibanding dengan jumlah bakteri itu sendiri sekitar 50% sampai 90% total biofilm yang terbentuk. EPS yang terbentuk biasanya bersifat hidrofilik dan hidrofobik. Produksi EPS dipengaruhi oleh beberapa hal seperti, nutrisi dari medium, kelebihan karbon, dan pembatasan nitrogen. Kalium atau fosfat dapat mendukung sintesis EPS, selain itu juga pertumbuhan bakteri yang lambat juga mempengaruhi produksi EPS karena untuk menghindari kekeringan (Homonta, 2016).



(gambar 2.3 Bakteri *Pseudomonas pada stenlis stel*)

2.2.3 Resistensi Terhadap Antibiotik

Bakteri yang sudah terbentuk dalam biofilm membentuk koloninya sendiri. Koloni yang sudah membentuk senyawa EPS memiliki lingkungan fisik yang berbeda dibandingkan dengan bakteri yang hidup pada lingkungan biasa (Böttcher *et al.*, 2013).

2.3 Bawang Putih Hitam

2.3.1 Deskripsi

Bawang putih banyak dipercaya sebagai obat alternatif untuk berbagai jenis penyakit, tetapi dengan bau dan rasanya yang kurang bisa diterima oleh beberapa orang maka dimodifikasi menjadi bawang hitam. Senyawa yang terkandung didalam bawang putih memiliki manfaat sebagai antibakteri, antifungi, antikanker, antihipertensi dan antioxidant (Pramitha dan Sundari, 2020). Bawang hitam merupakan bawang putih yang dituakan atau diamkan dengan suhu yang rendah hingga berubah berwarna gelap (coklat tua) dan teksturnya menjadi lebih lembut (Ryu dan Kang, 2017). Menurut Ryu dan Kang tahun 2017 proses penuaan bawang putih memerlukan waktu selama 10 hari dengan suhu 90°. Sedangkan pada penelitian Paramitha dan Sundari

tahun 2020 proses penuaan bawang putih membutuhkan waktu selama 21 hari untuk mendapatkan hasil yang optimal.



(Gambar 2.4 Bawang Hitam)

2.3.2 Taksonomi Bawang Putih

Kingdom	: Spermatophyta
Dvisio	: Angiospermae
Class	: Monocotyledonae
Bangsa	: Liliales
Suku	: Liliaceae
Marga	: <i>Allium</i>
Spesies	: <i>Allium sativum L</i>

2.3.3 Kandungan Bawang Hitam

Bawang hitam mengandung senyawa yang lebih stabil dibanding dengan bawang putih biasa. Bawang hitam memiliki kandungan aktif yaitu fenol, flavonoid, pirufat, tiosulfat, *S-allylcysteine*

(SAC), dan *S-allylmercaptocysteine*. Dalam sumber lain mengatakan bahwa bawang hitam memiliki kandungan *alliin*, *allicin*, *ajoene*, berbagai macam enzim, vitamin B, mineral dan flavonoid. Senyawa *S-Allylsysteine tetrahydro-B-carbolines* bawang hitam merupakan perubahan dari senyawa *allicin* yang meningkat enam kali lebih tinggi dari bawang putih biasanya dalam proses pemanasan (Amagase, 2006; Sasaki *et al.*, 2007). Senyawa derivat organosulfur terutama *allicin* yang banyak terkandung pada bawang hitam diharapkan dapat menjadi agen antibiofilm (Khadri, Boutefnouchet and Dekhil, 2010).

2.4 Ulkus Diabetikum

2.4.1 Definisi

Diabetes yang tidak terkontrol sering kali menyebabkan komplikasi, salah satunya adalah ulkus atau yang sering disebut ulkus diabetikum. Ulkus diabetikum biasanya disebabkan oleh kontrol glikemik yang buruk, neuropati yang mendasarinya, penyakit pembuluh perifer, atau perawatan yang buruk. Pasien diabetes yang mengalami ulkus diabetikum memerlukan perawatan yang lebih lama dibanding dengan pasien diabetes yang lainnya (Oliver dan Motluoglu, 2023).

2.4.2 Patofisiologi Ulkus Diabetikum

Patofisiologi ulkus diabetikum digambarkan dengan bentuk triad. Triad tersebut meliputi neuropati, insufisiensi vaskuler, dan infeksi sekunder. Neuropati mengakibatkan pasien ulkus kehilangan sesorik, gangguan saraf motorik, dan gangguan saraf otonom. Insufisiensi

vaskular (gangguan pada aliran darah) menyebabkan pasien mengalami iskemik dan terganggunya penyembuhan luka. Infeksi sekunder menyebabkan inflamasi pada pasien, gangguan penyembuhan luka dan *reduce angiogenesis* atau kondisi pengurangan pertumbuhan pembuluh darah pada tubuh, maka dari itu dari ketiga tahap di atas menggambarkan pembentukan ulus diabetikum (Raja *et al.*, 2023).

2.5 Cara Kerja Kandungan Bawang hitam

Bawang hitam mengandung *allicin* dan senyawa organosulfur seperti *allicin*, *ajoene*, dan *allyl methyl sulfide* yang lebih banyak dan stabil dibandingkan dengan bawang putih pada umumnya. Pada proses pembentukan biofilm ekstrak bawang hitam bekerja atau dapat mempengaruhi pada proses adhesi dan detachment. Proses biofilm *Pseudomonas aeruginosa* terdiri dari beberapa substansi seperti eksopolisakarida, *extracellular DNA* (eDNA), protein dan bahan lain. Proses eksopolisakarida terdiri atas algint, *polysaccharide encoding locus* (pel) dan *polysaccharide synthesis locus* (psl) (Wangi, Suswati dan Wisudanti, 2017). *Pseudomonas aeruginosa* yang habitat aslinya berada di tanah dan hidup bersama dengan basil, *actinomyces*, dan jamur, sehingga bakteri ini sendiri telah mengembangkan antibiotik alaminya. Resistensi antibiotik yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* disebabkan karena adanya permeabilitas yang dihasilkan oleh membrane luar gram negatifnya (Todar, 2020).

Allicin termasuk senyawa antimikroba yang memiliki berbagai mekanisme seperti memediasi sel sehingga memberikan efek perubahan

profil *lipid* pada membran sel, menurunkan perlekatan dan menghambat sekresi ekopolisakarida pada pembentukan biofilm sehingga biofilm yang terbentuk menjadi lebih tipis, mudah lepas dan secara signifikan menyebabkan *down-regulation*. Selain *allicin*, senyawa *ajoene* yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. *Ajoene* berperan sebagai *inhibitor quorum sensing* yang diketahui dapat menyebabkan *down-regulation* selain *allicin* (Gosal, Hutomo dan Sooi, 2021). Senyawa *allyl methyl sulfide* merupakan salah satu dari senyawa organosulfur yang berperak dalam menghambatan biofilm, senyawa organosulfur tersebut bereaksi dengan gugus *sulphidril* bebas pada protein atau enzim untuk menonaktifkannya dan mengganggu komposisi dan integritas membran atau dinding sel bakteri (Homenta, 2016). Selain *allicin* dan *ajoene* bawang hitam juga memiliki kandungan *allin*, *allin* merupakan senyawa yang nantinya akan berubah menjadi *allicin* yang dibantu oleh enzim *alliinase*. Senyawa *allin* membantu dalam menghambat sintesis DNA dan protein pada bakteri (Salima, 2015).

2.6 Optical Density

2.6.1 Definisi

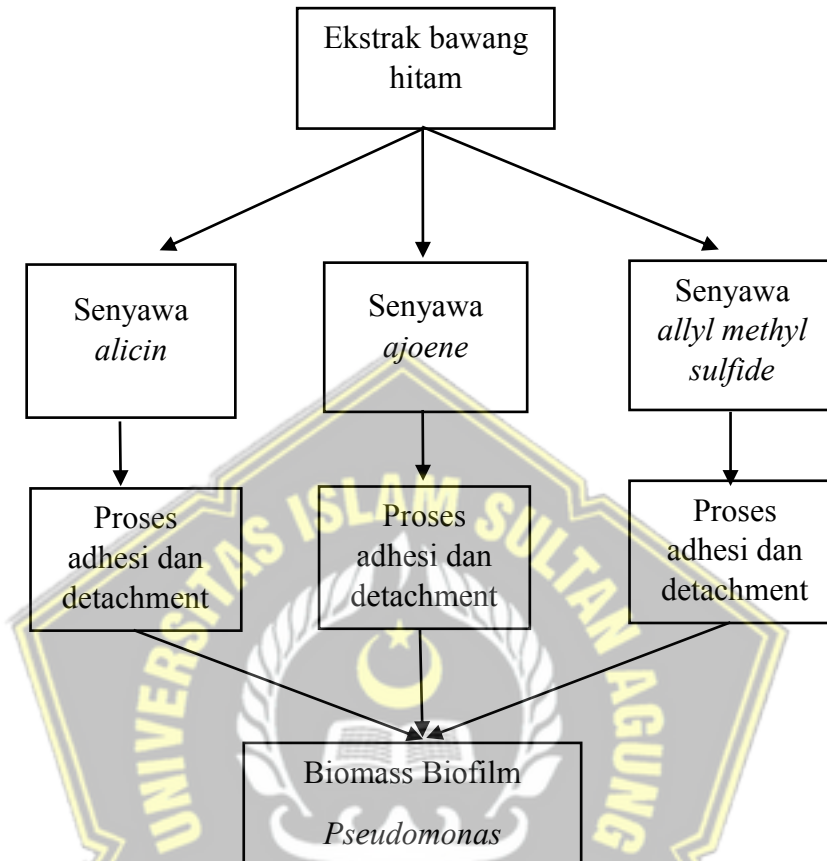
Optical density atau dalam Bahasa Indonesia disebut kepadatan optik merupakan mengukur kepadatan populasi bakteri yang dilihat sebagai kekeruhan bakteri (Mira, Yeh and Hall, 2022). Semakin sedikit nilai OD menandakan sedikitnya bakteri yang tumbuh, hal itu berbanding terbalik jika nilai OD semakin tinggi yang mengartikan pertumbuhan bakteri yang tinggi.

2.6.2 ODc

ODc merupakan nilai absorbansi batas yang diketahui sebagai tiga kali standar deviasi di atas OD rata-rata kontrol negatif. Nilai ODc digunakan untuk menentukan klasifikasi pertumbuhan bofilm bakteri kuat, sedang, atau lemah (Babapour *et al.*, 2016).

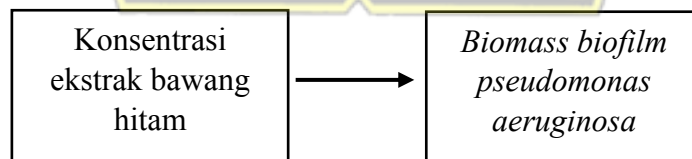


2.7 Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



2.6 Gambar kerangka konsep

2.9 Hipotesis

Terdapat pengaruh ekstrak bawang hitam terhadap *biomass biofilm Pseudomonas aeruginosa*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rencana Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan pendekatan *posttest only control grup* secara invitro. Efek ekstrak bawang hitam dalam menghambat pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan *microtiter plate bofilm assay* untuk melihat pengaruh ekstrak bawang hitam dalam menghambat pembentukan biofilm terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

3.2 Variable dan Definisi Oprasional

3.2.1 Variabel

3.2.1.1 Variable Bebas

Variable bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak bawang hitam.

3.2.1.2 Variable terikat

Variable terikat dalam penelitian ini adalah biomassa biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa*.

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Konsentrasi ekstrak bawang hitam

Konsentrasi ekstrak bawang hitam adalah ekstrak bawang hitam dengan metode sokletasi menggunakan pelarut methanol 99%. Hasil ekstraksi yang didapat kemudian diencerkan

dengan menggunakan aquabidest untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan dengan menggunakan rumus $V1.M1 - V2. M2$. Konsentrasi digunakan dalam penelitian ini adalah 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; dan 1,5 mg/ml.

Skala : Nominal

3.2.2.2 Biomassa Biofilm *Pseudomonas aeruginosa*

Biomassa biofilm diuji dengan metode *microtiter palet biofilm assay* menggunakan *elisa reader*. Nilai *optical density* (OD) pada Panjang gelombang 630 nm digunakan sebagai biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa*.

Skala : rasio.

3.3 Populasi dan Sample

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri isolat klinik pada pasien ulkus diabetikum yang dirawat di Rumah Sakit Sultan Agung Semarang. Bakteri sampel yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kepekaan standar *McFarland* 0,5.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut :

1. iMark Bio Rad *microplate reader*
2. *Microplate*

3. *Rotatory evaporator*
4. JEOL JSM 5310LV *scanning microscope*
5. Jarum ose bulat
6. Gelas ukur
7. Kertas saring

3.2.1 Bahan Penelitian

1. Isolasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Ekstrak Bawang Hitam
3. Larutan *Crystal Violet* (CV) 0,1%
4. *Methanol* 96% (vol/vol)
5. Asam asetat glasiel 33%
6. Air steril

3.5 Cara Penelitian

3.5.1 Persiapan Sampel Ekstrak Bawang Hitam

Tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah membuat ekstrak bawang hitam dengan cara berikut :

1. Bawang hitam yang sudah dikupas seberat 500gr lalu dipotong kecil-kecil.
2. Setelah dipotong kecil-kecil taruh ditabung tertutup.
3. Selanjutnya berikan *methanol* 96% dan diamkan pada suhu ruangan.
4. Setelah itu saring agar terpisah antara potongan bawang dengan fitrat yang diinginkan.

5. Fitrat yang sudah diambil lalu di uapkan dengann *rotatory evaporator* agar didapatkan ekstrak yang kental.
6. Ekstrak yang didapat diencerkan menggunakan pelarut air dengan konsentrasi 0,3 mg/ml; 0,6 mg/ml; 0,9 mg/ml; 1,2 mg/ml; dan 1,5 mg/ml

3.5.2 Uji Biofilm

Tahap selanjutnya yang dilakukan setelah pemeriksaan terhadap isolate bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang didapat dari luka dan telah teridentifikasi spesies *Pseudomonas aeruginosa* akan diuji kemampuan pembentukan biofilm melalui prosedur *Micrototer plate assay*.

1. Alat dan bahan :
 - a. Isolate bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
 - b. Larutan *Crystal Violet* 1 %
 - c. *Methanol* 96%
 - d. Media steril TBS
 - e. Air steril
 - f. *Autoclave*
 - g. Inkubator suhu 37°C
 - h. *Biological safety cabinet*
 - i. Busen burner
 - j. Tabung reaksi
 - k. Pipet tetes steril

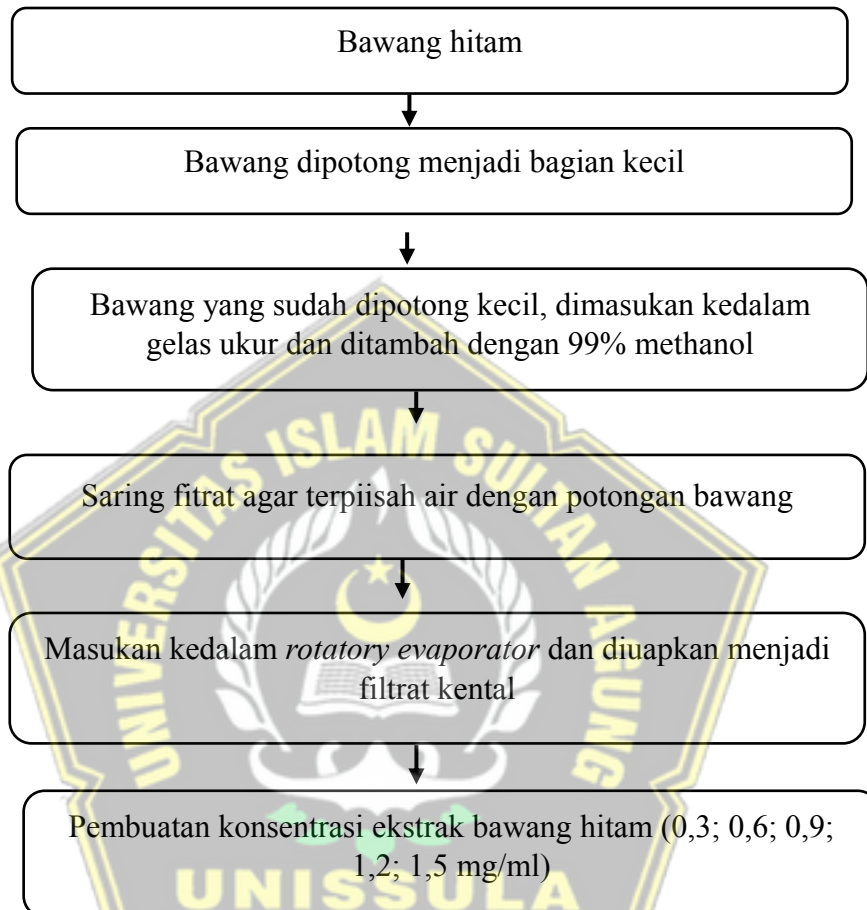
- l. *Single-channel pipettes* (2–20 μl , 20–200 μl , 100–1.000 μl)
 - m. *Sterile pipette tips* (20, 200, 1.000 μl)
 - n. *Sterile 96-well plates* (Costar 3879).
 - o. *Spectrophotometer/Elisa reader* untuk pembacaan absorbansi 630 nm
 - p. *Inoculation loop*
 - q. *Vortex mixer* (Fisherbrand Analog Vortex Mixer, cat. no. 02-215-414)
 - r. Mesin sentrifus
 - s. Densitometer *McFarland*
2. Tata cara
- a. Piring petri di inkubasi selama 16-20 jam pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ untuk memperoleh koloni tunggal.
 - b. 3-5 koloni mikroba di ambil dan dilarutkan 3 ml NaCl dan disesuaikan dengan *McFarlan* 0,5 atau setara dengan kepekaan 3×10^8 CFU/ mL dan diukur menggunakan densitometer *McFarland*.
 - c. 10 μL bakteri dimasukkan kedalam kultur dan media dengan perbandingan 1:100 kedalam *microtiter 96 wells plates*.
 - d. 100 μL media cair yang sudah dibuat di masukan ke dalam setiap sumuran *microtiter 96 wells plates*.

- e. Ekstrak bawang hitam di masukan ke dalam plates sebanyak 100 μ L dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 mg/ml
- f. Plates yang berfungsi sebagai kontrol negatif ditambahkan medium cair.
- g. Plates yang berfungsi sebagai control positif ditambahkan medium cair dan suspense bakteri.
- h. Pelat *microtiter* di inkubasi selama 48 jam dengan suhu 37 $^{\circ}$ C untuk menumbuhkan biofilm.
- i. Setelah diinkubasi, isi sumuran di buang dengan hati-hati menggunakan *mikropipet multichannel* tanpa menyentuh dinding atau dasar mikropipet.
- j. *Microtiter* yang sudah dibersihkan di cuci dengan *phosphate buffered saline* (PBS) sebanyak 3 kali.
- k. *Methanol* 96% sebanyak 100 μ L dimasukan ke dalam pelat lalu didiamkan selama 15 menit.
- l. Menambahkan 100 μ L cairan *crystal violet* 1% selama 20 menit
- m. Mencuci plates menggunakan akuades.
- n. Larutan asam asetat glasial 33% sebanyak 100 μ L ditambahkan dan didiamkan selama 15 menit.
- o. Pembacaan hasil menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 630 nm.

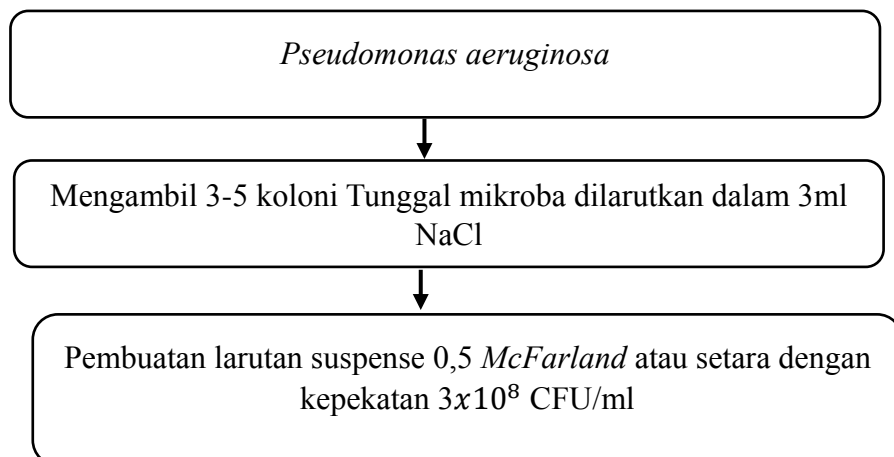
3. Perhitungan kekuatan *biofilm Pseudomonas aeruginosa*
 - a. Hasil dari pembacaan microplate rader dimasukan kedalam program excel.
 - b. Menghitung rata-rata *Optical Density* (OD) masing-masing perlakuan dengan menggunakan rumus *average* pada excel.
 - c. Selanjutnya mehitung standar devisiasi masing-masing kelompok dengan rumus “stdv” pada excel.
 - d. Menghitung Odc kontrol negatif dengan rumus rerata kontrol negatif di tambah tiga kali standar devisiasi kontrol negatif.
 - e. Rata-rata perkelompok dibagi dengan Odc untuk mengetahui kekuatan biofilm masing-masing kelompok.

3.6 Alur Penelitian

3.6.1 Tahap pertama

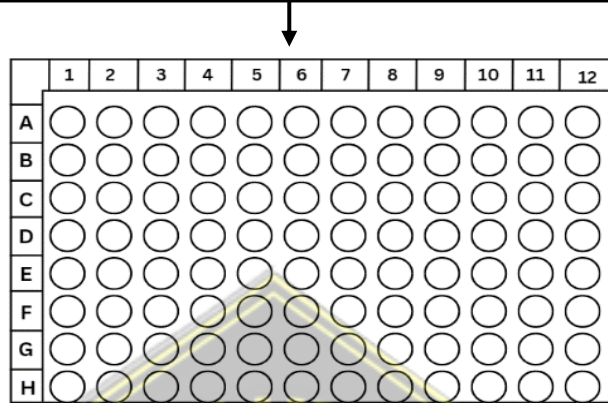


3.6.2 Tahap Kedua



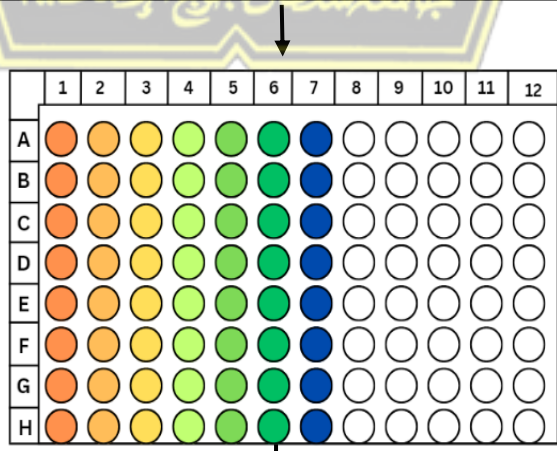
3.2.8 Tahap Ketiga

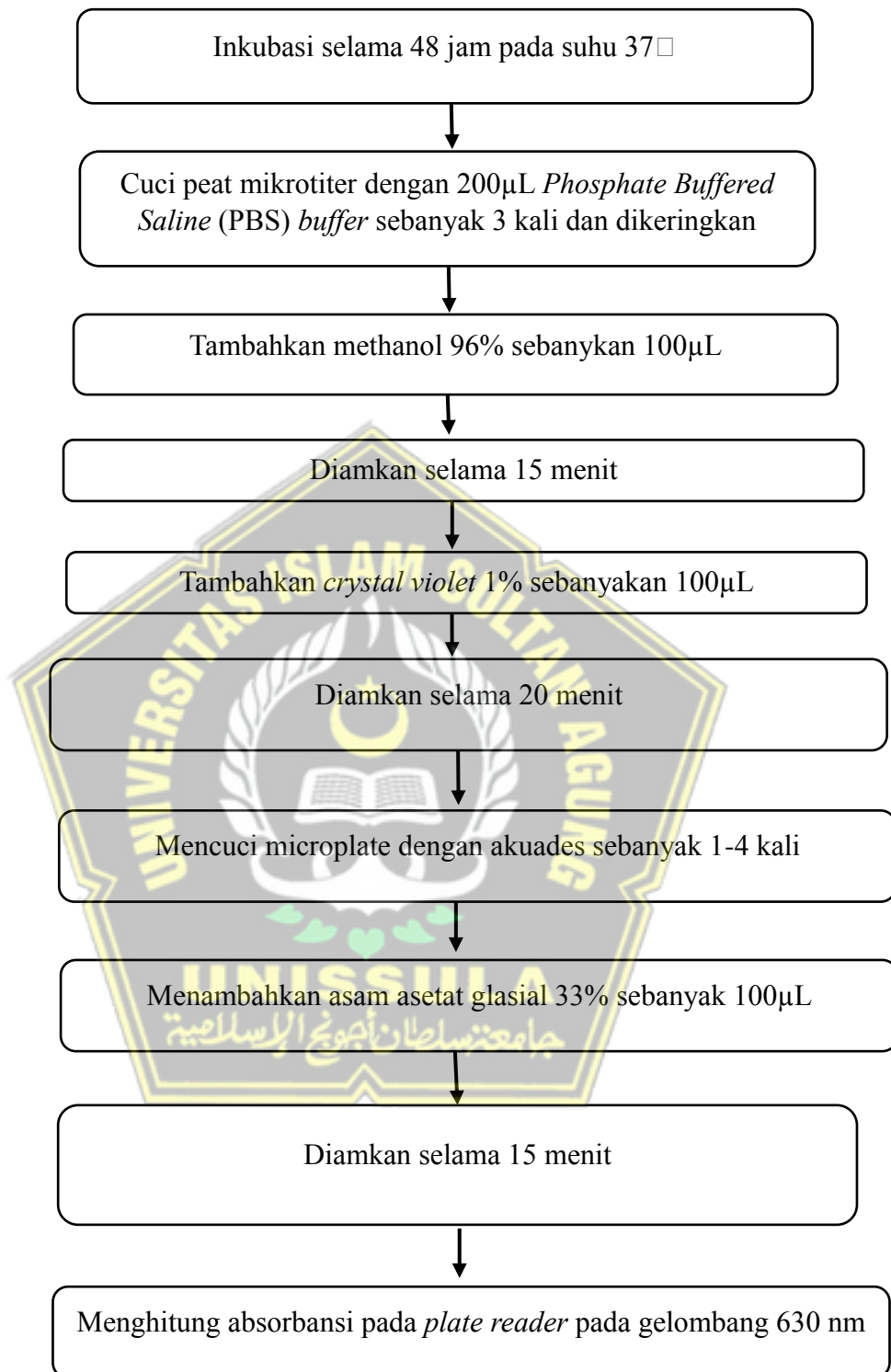
Masukan 10 μ L suspensi bakteri yang sudah dibuat pada tahap kedua kedalam sumuran



Masukan 10 μ L ekstrak bawang hitam kedalam sumuran :

- Konsentrasi 0,3 ml/mg pada jalur 1 A-H
- Konsentrasi 0,6 ml/mg pada jalur 2 A-H
- Konsentrasi 0,9 ml/mg pada jalur 3 A-H
- Konsentrasi 1,2 ml/mg pada jalur 4 A-H
- Konsentrasi 1,5 ml/mg pada jalur 5 A-H
- Kontrol positif diberi 100 μ L medium dan 10 μ L suspensi bakteri pada jalur 6 A-H
- Kontrol positif diberi 100 μ L medium



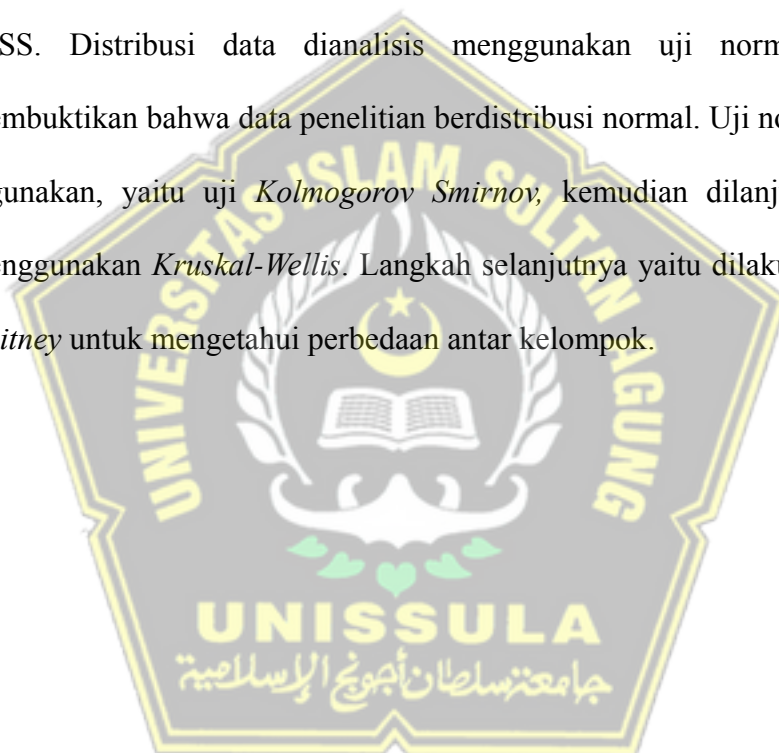


3.7 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan dalam rentan waktu Desember 2023 hingga Maret 2024, yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan Laboratorium RSI Sultan Agung Semarang.

3.8 Analisis Hasil

Pada penelitian ini data yang didapatkan dianalisis menggunakan aplikasi SPSS. Distribusi data dianalisis menggunakan uji normalitas, untuk membuktikan bahwa data penelitian berdistribusi normal. Uji normalitas yang digunakan, yaitu uji *Kolmogorov Smirnov*, kemudian dilanjutkan analisis menggunakan *Kruskal-Wellis*. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan uji *mann whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian dengan judul pengaruh konsentrasi ekstrak bawang hitam terhadap biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilaksanakan di laboratorium RSI Sultan Agung dan laboratorium Mikrobiologi FK Unisula pada tanggal 21 Maret 2024. Penelitian ini menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari laboratorium mikrobiologi FK Unissula yang di ambil dari isolat klinik pada pasien dengan ulkus diabetikum yang di rawat di RSI Sultan Agung Semarang.

Bawang hitam yang dipakai dalam penelitian ini diperoleh dari produsen kota Semarang. Bawang hitam yang telah dibentuk menjadi ekstrak murni untuk selanjutnya diencerkan. Ekstrak bawang hitam yang sudah didapat diencerkan menggunakan aquades dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 mg/ml. Dalam penelitian ini terdapat 7 kelompok yang dibagi menjadi kelompok 1 (konsentrasi 0,3 mg/ml), kelompok 2 (konsentrasi 0,9 mg/ml), kelompok 3 (konsentrasi 0,9 mg/ml), kelompok 4 (konsentrasi 1,2 mg/ml), kelompok 5 (konsentrasi 1,5 mg/ml), kelompok 6 (kontrol positif berisi medium cair dan bakteri), kelompok 7 (kontrol negatif berisi medium cair) dengan masing-masing pengulangan sebanyak delapan kali.

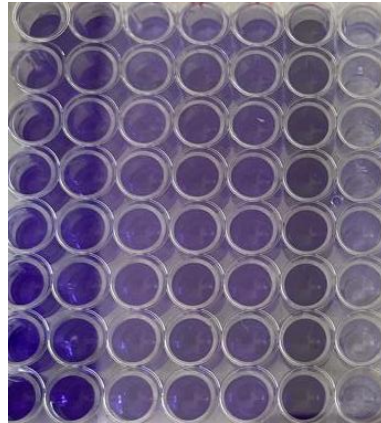
Hasil kekuatan biofilm konsentrai 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 mg/ml, dan kontrol positif dibagi dengan ODc. ODc adalah rata-rata kelompok kontrol negatif (medium cair) ditambah 3 kali standar deviasi dari kelompok kontrol

negatif, dalam hal ini sebesar 0,1276. Kekuatan biofilm diukur dari rerata masing-masing kelompok dibagi dengan ODc kontrol negatif. Nilai kekuatan biofilm dikatakan kuat apabila nilai rerata nilai OD > 4xODc dan dikatakan lemah apabila kurang dari ODc, adapun kekuatan biofilm masing-masing kelompok ditampilkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil perhitungan kekuatan biofilm.

OD Gelombang 630	Kelompok						
	K. 0,3	K. 0,6	K. 0,9	K. 1,2	K. 1,5	K. (+)	K. (-)
A	0,0903	0,1024	0,0962	0,0627	0,0811	2,5642	0,0890
B	0,1241	0,0899	0,0722	0,0857	0,1232	1,7760	0,0705
C	0,1157	0,1323	0,1104	0,1069	0,0760	2,4201	0,0849
D	0,1269	0,0868	0,1204	0,0760	0,0693	2,1288	0,0982
E	0,1028	0,0880	0,0765	0,1043	0,0973	1,7414	0,1125
F	0,1077	0,0932	0,0752	0,1193	0,0778	2,1052	0,0861
G	0,0891	0,0719	0,0748	0,0823	0,0874	2,4688	0,0823
H	0,2385	0,0975	0,0854	0,0794	0,0808	2,4969	0,0732
RATA-RATA	0,1244	0,0953	0,0889	0,0896	0,0866	2,2127	0,0871
STDV	0,0482	0,0174	0,0183	0,0188	0,0169	0,3261	0,0135
ODc							0,1275
KEKUATAN BIOFILM	0,9757	0,7471	0,6972	0,7026	0,6794	17,3556	

Dari Tabel 4.1 menunjukkan bahwa ekstrak bawang hitam mampu menurunkan kekuatan biofilm, dari 17,3556 menjadi berkurang, baik konsentrasi paling tinggi hingga paling rendah. Penipisan biofilm paling baik dimana terjadi penurunan kekuatan biofilm pada konsentrasi yang paling tinggi.



Gambar 4.2 *Microtiter 96 Well Plates*

Hasil pembacaan *Optical Density* lalu dianalisis normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene's Test*. Hasil analisis yang didapatkan menyatakan bahwa data terdistribusi dengan tidak normal dan varian data tidak homogen ($p < 0,05$), karena data tidak berdistribusi normal, data diuji menggunakan uji statistik nonparametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji analisis penelitian ini diperlihatkan pada table 4.2.

Tabel 4.2. Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji *KruskalWallis*

Kelompok	Uji		
	Shapiro Wilk	Levene Statistic	Kruskal Wellis
1 (K.0,3 mg/ml)	0.002*		
2 (K.0,6 mg/ml)	0.193		
3 (K. 0,9 mg/ml)	0.096		
4 (K. 1,2 mg/ml)	0.730		
5 (K. 1,5 mg/ml)	0.074		
6 (Kontrol positif)	0.160		
7 (Kontrol negatif)	0.619		
p-value		0.000^	0.000×

Keterangan : Tanda* menunjukkan distrubsi data tidak normal ($p < 0,05$). Tanda^ menunjukkan variasi data tidak homogen ($p < 0,05$). Tanda× menunjukkan perbedaan signifikan untuk uji *kruskal-wallis* ($p < 0,05$).

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara berbagai kelompok, untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara signifikan, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*, ditampilkan dalam tabel 4.3.

Tabel 4.3. Hasil Uji *Mann-Whitney*.

	Mann whitney						
	Kelompok 1 (0.3)	Kelompok 2 (0.6)	Kelompok 3 (0.9)	Kelompok 4 (1.2)	Kelompok 5 (1.5)	Kelompok 6 Positif (bakteri)	Kelompok 7 Negatif (ekstrak)
Kelompok 1		0.059	0.046*	0.058	0.046*	0.000*	0.000*
Kelompok 2			0.401	0.636	0.620	0.001*	0.001*
Kelompok 3				0.753	0.917	0.001*	0.001*
Kelompok 4					0.713	0.000*	0.001*
Kelompok 5						0.001*	0.000*
Kelompok 6							0.001*
Kelompok 7							

Keterangan : tanda* menunjukkan perbedaan yang signifikan.

4.2. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak bawang hitam terhadap penghambatan pembentukan biofilm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Kelompok kontrol positif digunakan sebagai penanda bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan merupakan bakteri pembentuk biofilm yang kuat. *Pseudomonas aeruginosa* dalam beberapa literatur disebutkan merupakan bakteri penghasil biofilm yang kuat (Wahyudi and Soetarto, 2021).

Senyawa *alicin* dan *ajoene* yang terdapat pada ekstrak bawang hitam dapat menghambat pertumbuhan biofilm dengan mengubah profil lipid dan menghambat dari perlekatan bakteri.

Uji penghambatan biofilm bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak bawang hitam terhadap penghambatan pertumbuhan biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak bawang putih dapat menghambat pertumbuhan biofilm dengan konsentrasi paling efektif pada konsentrasi 1,5 mg/ml, (Wangi, Suswati and Wisudanti, 2017) sesuai dengan penelitian sebelumnya pada bawang hitam secara optimal menghambat biomass biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi paling tinggi yaitu 1,5 mg/ml.

Bawang hitam pada penelitian lain juga dapat menjadi antibakteri *Acinetobacter baumannii* pada (Saputra *et al.*, 2023) dengan dibantu oleh zat yang terkandung dalam bawang hitam seperti *allicin* yang menghambat pembentukan RNA dan sintesis lipid sehingga pembentukan protein dan asam amino tidak dapat diproduksi dan fosfolipid pada dinding sel tidak terbentuk yang menyebabkan bakteri tersebut tidak berkembang. Bawang putih, selain menghambat pertumbuhan biofilm bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat menghambat pertumbuhannya biofilm bakteri lain seperti bakteri *Escherichia coli* dalam penelitian (Nadhiroh, 2019).

Keterbatasan penelitian ini adalah kesulitan untuk menjernihkan ekstrak, tidak seperti bawang putih yang ekstraknya jernih, sehingga mengganggu pembacaan. Perlu penelitian lebih lanjut untuk menghilangkan pigmen warna yang timbul akibat fermentasi bawang hitam.

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian terkait efektifitas ekstrak bawang hitam terhadap perkembangan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Ekstrak bawang hitam mampu berpengaruh terhadap biomassa biofilm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 0,3 mg/ml sebesar 0,12±SD dengan kekuatan sebesar 0,9757.
3. Biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 0,6 mg/ml sebesar 0,09±SD dengan kekuatan sebesar 0,7471.
4. Biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 0,9 mg/ml sebesar 0,09±SD dengan kekuatan sebesar 0,6972.
5. Biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 1,2 mg/ml sebesar 0,09±SD dengan kekuatan sebesar 0,7026.
6. Biomassa biofilm *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak bawang hitam konsentrasi 1,5 mg/ml sebesar 0,09±SD dengan kekuatan sebesar 0,6794.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran untuk melakukan penelitian selanjutnya seperti. Penelitian selanjutnya dengan desain yang sama dan menyingkirkan pigmen warna dalam pembuatan ekstrak.



DAFTAR PUSTAKA

- Amagase, H. (2006) 'Clarifying the Real Bioactive Constituents of Garlic¹', *The Journal of Nutrition*, 136(3), pp. 716S-725S. doi: <https://doi.org/10.1093/jn/136.3.716S>.
- Babapour, E. *et al.* (2016) 'Biofilm formation in clinical isolates of nosocomial *Acinetobacter baumannii* and its relationship with multidrug resistance', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(6), pp. 528–533. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.04.006.
- Böttcher, T. *et al.* (2013) 'Synthesis and activity of biomimetic biofilm disruptors', *Journal of the American Chemical Society*, 135(8), pp. 2927–2930. doi: 10.1021/ja3120955.
- Gosal, L., Hutomo, S. and Sooai, C. M. (2021) 'Garlic (*Allium sativum* L.) Ethanolic Extract Capability to Inhibit *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation', *Journal of Medicine and Health*, 3(1), pp. 1–8. doi: 10.28932/jmh.v3i1.3143.
- Homenta, H. . (2016) 'Infeksi Biofilm Bakterial', *Jurnal e-Biomedik*, 4(1), pp. 1–11. doi: 10.35790/ebm.4.1.2016.11736.
- Jawetz, Melinick and Aldeberg (2008) 'Mikrobiologi Iftdokteran', *Mikrobiologi kedokteran*, 23(1), pp. 251–257.
- Khadri, S., Boutefnouchet, N. and Dekhil, M. (2010) 'Antibacterial activity evaluation of *Allium sativum* essential oil compared to different *Pseudomonas aeruginosa* strains in eastern Algeria', *Studii si Cercetari Stiintifice: Chimie si Inginerie Chimica, Biotehnologii, Industrie Alimentara (Universitatea Bacau)*, 11(4), pp. 421–428.
- Luqman, A. and Alami, N. (2021) 'Bakteriologi spesies kosmopolit', (September).
- Mira, P., Yeh, P. and Hall, B. G. (2022) 'Estimating microbial population data from optical density.', *PLoS one*, 17(10), p. e0276040. doi: 10.1371/journal.pone.0276040.
- Nadhiroh, S. (2019) 'SEBAGAI PENGHAMBAT PEMBENTUKAN BIOFILM *ESCHERICHIA COLI* SECARA IN VITRO TUGAS AKHIR Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Oleh : Siti Nadhiroh FAKULTAS KEDOKTERAN'.
- Nuryastuti, T. *et al.* (2023) *Pedoman Pengambilan Sampel dan Uji Biofilm Pada Sampel Klinis*.
- Oliver, T. I. and Motluoglu, M. (2023) 'Diabetic Foot Ulcer'. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537328/>.

- Pramitha, D. A. I. and Sundari, N. K. G. (2020) 'Kapasitas Antioksidan Pada Black Garlic Tunggal Dan Majemuk Secara In-Vitro Dengan Dpph (Antioxidant Capacity Of Single And Multiple Black Garlic In-Vitro With Dpph)', *Jurnal Ilmiah Mdicamento*, 6(2), pp. 79–83.
- Purbowati, R. (2018) 'Hubungan Biofilm dengan Infeksi: Implikasi pada Kesehatan Masyarakat dan Strategi Mengontrolnya', *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 5(1), p. 1. doi: 10.30742/jikw.v5i1.1.
- Qin, S. *et al.* (2022) 'Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics', *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), pp. 1–27. doi: 10.1038/s41392-022-01056-1.
- Raja, J. M. *et al.* (2023) 'Diabetic foot ulcer: A comprehensive review of pathophysiology and management modalities', *World Journal of Clinical Cases*, 11(8), pp. 1684–1693. doi: 10.12998/wjcc.v11.i8.1684.
- Ryu, J. H. and Kang, D. (2017) 'Physicochemical properties, biological activity, health benefits, and general limitations of aged black garlic: A review', *Molecules*, 22(6). doi: 10.3390/molecules22060919.
- Salima, J. (2015) 'Antibacterial Activity of Garlic Extract (*Allium sativum* L.)', *J Majority*, 4(2), pp. 30–39.
- Saputra, A. N. *et al.* (2023) 'UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BAWANG PUTIH DAN BAWANG HITAM SIUNG TUNGGAL (*Allium sativum*) TERHADAP *Acinetobacter baumannii*', *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 12(1), pp. 256–265. doi: 10.31571/saintek.v12i1.5989.
- Sasaki, J. *et al.* (2007) 'Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology ©2007 Global Science Books Processed Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance Anti-Tumor Potency against Mouse Tumors', 14, pp. 4–7.
- Sauer, K. *et al.* (2022) 'The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation', *Nature Reviews Microbiology*, 20(10), pp. 608–620. doi: 10.1038/s41579-022-00767-0.
- Suyono, Y. and Farid, S. (2011) 'Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri *Pseudomonas* pada Tanah yang Terindikasi Terkontaminasi Logam', *Jurnal Biopropal Industri*, 02(01), pp. 8–13.
- Todar, K. (2020) *Todar's Online Textbook of Bacteriologi*.
- Wahyudi, D. and Soetarto, E. S. (2021) 'Pembentukan Biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada Beberapa Media Cair', *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 10(2), pp. 35–40. doi: 10.37013/jf.v10i2.142.
- Wangi, R. P. L., Suswati, E. and Wisudanti, D. D. (2017) 'The Activity of

Methanolic Extract of Garlic (*Allium sativum*) in Inhibiting Growth of Biofilm in *Pseudomonas aeruginosa*, *Pustaka Kesehatan*, 5(3), pp. 537–543.

