

***POTENTIAL OF RED ONION PEEL ETHANOL EXTRACT (*Allium cepa* L.) TO DEGRADATION OF *Staphylococcus aureus* BIOFILM***

***POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT BAWANG MERAH (*Allium cepa* L.) UNTUK MENDEGRADASI BIOFILM *Staphylococcus aureus****

**Dwi Nur Indah Sari<sup>1\*</sup>, Alya Ghina Rosyada<sup>1</sup>, Anindita Laksitasari<sup>1</sup>, Fanni Kusuma Djati<sup>1</sup>, Restian Febi Andini<sup>1</sup>, Wahyudin<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Jurusan Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman

<sup>2</sup>Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman

Jl. Dr. Gumbreg No.1, Kelurahan Mersi, Kecamatan Purwokerto Selatan, Kabupaten Banyumas,  
Jawa Tengah, Indonesia

**ABSTRACT**

Dental biofilm is a bacterial colonization adhering to the tooth surface, enveloped by an extracellular matrix. This biofilm shields bacteria from the body's defense and antibacterial systems, potentially leading to various dental and oral diseases. *Staphylococcus aureus* is among the bacteria forming dental biofilm. Red onion peel (*Allium cepa* L.) contains compounds with antibacterial and anti-biofilm properties, such as flavonoids, saponins, tannins, steroids, and alkaloids.. This study aimed to determine the potential of shallot peel extract in degrading *S. aureus* biofilms. This study was conducted with a posttest-only control group design. Red onion peel extraction is carried out using the maceration method. A total of 5 groups of extracts (50%, 25%, 12.5%, 6.25%, and 3.12%), positive control (chlorhexidine gluconate 0.2%), and negative control (DMSO 1%) were tested for their activity in *S. aureus* biofilm degradation at 24 and 48 hours of incubation. The biofilm degradation was assessed using the microtiter plate assay method with crystal violet staining read at a wavelength of 595 nm. Percent biofilm degradation was statistically analyzed using Two way ANOVA and LSD. The results indicated significant differences based on treatment, incubation time, and the interaction between the two. The highest activity was observed at a concentration of 25%, although it was still lower than that of positive control. Conclusion: the ethanol extract of red onion peel has the potential to degrade *S. aureus* biofilms, with the highest activity at a concentration of 25% and an incubation time of 48 hours.

**Keywords:** Antibiofilm, Red Onion Peel Ethanol Extract, *Allium cepa* L., *Staphylococcus aureus*

### ABSTRAK

Dental biofilm merupakan kolonisasi bakteri yang melekat pada permukaan gigi dan terbungkus oleh matriks ekstraseluler. Dental biofilm melindungi bakteri dari sistem pertahanan dan antibakteri sehingga berpotensi menimbulkan berbagai macam penyakit gigi dan mulut. Salah satu bakteri yang membentuk dental biofilm adalah *Staphylococcus aureus*. Kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) diketahui mengandung flavonoid, saponin, tanin, steroida, dan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak kulit bawang merah dalam mendegradasi biofilm *S. aureus*. Penelitian ini dilakukan dengan rancangan *posttest-only control group design*. Ekstraksi kulit bawang merah dilakukan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 5 kelompok ekstrak (50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,12%), kontrol positif (chlorhexidine gluconat 0,2%), serta kontrol negatif (DMSO 1%) diuji aktivitasnya dalam degradasi biofilm *S. aureus* dengan durasi paparan 24 jam dan 48 jam. Uji degradasi biofilm dilakukan dengan metode *microtiter plate assay* menggunakan pewarnaan kristal violet yang dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Persentase degradasi biofilm dianalisis statistik menggunakan *Two way ANOVA* dan *LSD*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan signifikan baik berdasarkan perlakuan, durasi paparan maupun interaksi keduanya. Aktivitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 25%, tetapi masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif. Kesimpulan ekstrak etanol kulit bawang merah berpotensi dalam mendegradasi biofilm *S. aureus* dengan aktivitas tertinggi pada konsentrasi 25% dan durasi paparan 48 jam.

**Kata kunci:** Antibiofilm, Ekstrak etanol kulit bawang merah, *Allium cepa* L., *Staphylococcus aureus*

---

#### Penulis korespondensi:

Dwi Nur Indah Sari,  
Jurusan Kedokteran Gigi,  
Jl. Dr. Soeparno, Kampus Karangwangkal Gedung E, Karang Bawang,  
Grendeng, Kec. Purwokerto Utara, Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah 53122.  
Email:dwi.nurindahsari@unsoed.ac.id

### PENDAHULUAN

Banyak permasalahan kesehatan gigi dan mulut dimulai dari dental biofilm yang berlebihan dan tidak dibersihkan. Dental biofilm atau *dental plaque* merupakan lapisan yang terdiri dari koloni bakteri yang melekat pada permukaan di dalam rongga mulut (Newman *et al.*, 2019). Bakteri dalam biofilm dilindungi oleh substansi polimer matriks ekstraseluler yang sulit dijangkau oleh sistem pertahanan tubuh dan agen antibakteri sehingga menyebabkan infeksi berkembang dan merusak jaringan di sekitarnya (Yu *et al.*, 2017).

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri oportunistik di dalam rongga mulut yang memiliki kemampuan dalam membentuk biofilm. *Staphylococcus aureus* meskipun bukan merupakan bakteri dominan dalam dental biofilm, tetapi bakteri ini memiliki kemampuan membentuk biofilm dengan berbagai cara, yaitu melalui pembentukan

---

potential of red onion peel ethanol extract (*allium cepa* L.) to degradation  
of *staphylococcus aureus* biofilm (Dwi Nur Indah Sari)

polisakarida, agregasi antarsel dengan bantuan eDNA, agregasi dengan bantuan fibrin milik host, dan agregasi dengan bantuan toksin phenol-soluble modulin (PSM). Biofilm *Staphylococcus aureus* yang sudah terbentuk seringkali sulit diatasi karena menimbulkan rekurensi dan resistensi antibiotika.

*Treatment* terhadap dental biofilm dapat dilakukan secara mekanis dengan menyikat gigi dan *dental flossing*. Akan tetapi, pembersihan secara mekanis saja kurang menunjukkan hasil maksimal karena sulit menjangkau dental biofilm di area subgingiva dan interdental yang sempit. Oleh karena itu, diperlukan terapi adjuvan berupa antibakteri (Manson *et al.*, 2013; Newman *et al.*, 2019). *Chlorhexidine gluconate* 0,2% (CHG 0,2%) merupakan *Gold standard* antibakteri yang mampu menurunkan pembentukan plak gigi. CHG dapat mencegah akumulasi plak, sehingga dapat dijadikan antiplak dan antigingivitis serta mencegah perlekatan bakteri pada sel epitel mukosa rongga mulut. CHG termasuk dalam antimikroba spektrum luas sehingga dapat digunakan untuk bakteri Gram positif maupun Gram negatif, dermatophytes, maupun virus lipolitik (Aoun *et al.*, 2015; Granicher *et al.*, 2020). Namun penggunaan CHG memiliki efek samping berupa hipersensitivitas, staining gigi, xerostomia, halitosis, peningkatan jumlah kalkulus, erosi gigi, ketidakseimbangan flora normal rongga mulut (Jeddy *et al.*, 2018). Oleh karena itu, diperlukan alternatif yang lebih aman, misalnya dengan menggunakan bahan alam.

Salah satu bahan alam yang memiliki kandungan metabolit sekunder yang bersifat antibakteri adalah kulit bawang merah. Kulit bawang merah dianggap sebagai limbah pascapanen dan belum dimanfaatkan secara optimal. Bawang merah mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid (Misna dan Diana, 2016; Octaviani *et al.*, 2019). Senyawa flavonoid memiliki kemampuan menginaktivasi protein adhesin, enzim, dan transport protein bakteri. Selain flavonoid, metabolit sekunder lain seperti saponin, tanin, alkaloid, steroid, terpenoid, fenol, glikosida mampu merusak polisakarida bakteri.

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit bawang memiliki sifat antibakteri dan antibiofilm. Ekstrak etanol kulit bawang merah terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50% dengan diameter hambat sebesar 16,03 mm (Octaviani *et al.*, 2019). Penelitian mengenai aktivitas antibiofilm ekstrak kulit bawang merah juga telah dilakukan oleh Rosyada *et al.* (2023). Hasilnya menunjukkan ekstrak kulit bawang merah konsentrasi 12,5% efektif menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*. Namun demikian, belum ada penelitian mengenai efek ekstrak kulit bawang merah dalam mendegradasi biofilm *Staphylococcus aureus* yang telah terbentuk. Berdasarkan permasalahan-permasalahan tersebut, penelitian ini bermaksud untuk mengetahui potensi ekstrak etanol kulit bawang merah yang belum dimanfaatkan dengan baik. Penelitian diharapkan dapat mengurangi limbah bahan alam sekaligus memanfaatkan kearifan lokal yang ada untuk menjawab persoalan dalam bidang kedokteran gigi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak etanol kulit bawang merah terhadap degradasi biofilm bakteri *Streptococcus aureus*.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Jumlah kelompok yaitu 7 yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan (ekstrak kulit bawang merah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,12%)

dan 2 kelompok kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif) dengan replikasi sebanyak 8 kali.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya neraca digital, erlenmeyer, tabung reaksi dan rak, cawan petri, jarum ose, *microtiter plate*, *microtiter plate reader*, inkubator, kertas saring, *rotary vacuum evaporator*, *waterbath*, blender, mikropipet, dan autoklaf. Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya kultur bakteri *S. aureus* ATCC 25923, kulit bawang merah, etanol 96% , DMSO 1% , *Chlorhexidine gluconate* 0,2% (CHG 0,2% ), asam asetat, asam sulfat pekat, set pewarna Gram, larutan fisiologis NaCl 0,9%, *modified congo red agar* (MCRA), TSBG 2,5% (trypticase soy broth +glukosa 2,5%), Akuades, PBS, Isopropanol, dan kristal violet 1%.

### Jalannya Penelitian

#### 1. Permohonan *Ethical Clearance*

Permohonan ethical clearance diajukan kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Penelitian dilaksanakan setelah mendapatkan persetujuan etik dengan nomor surat 009/KEPK/PE/V/2022.

#### 2. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.)

Kulit bawang merah diambil dari Kabupaten Brebes, Jawa Tengah, Indonesia. Sampel tanaman bawang merah selanjutnya dilakukan determinasi tanaman di Laboratorium Lingkungan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman.

Kulit bawang merah yang segar akan disortasi basah, kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah disortasi basah, kulit bawang merah dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Kulit bawang merah yang telah dikeringkan dilakukan sortasi kering terhadap kulit bawang yang mengalami kerusakan pada saat proses pengeringan. Kulit bawang merah hasil sortasi kering siap di ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi. Ekstrak dibuat dengan metode maserasi. Kulit bawang merah hasil sortasi ditimbang seberat 250 gram. Selanjutnya, kulit bawang merah direndam di dalam wadah maserasi yang telah berisi cairan penyari yaitu etanol 96 % sebanyak 1000 mL selama 5 hari dan pengulangan maserasi sebanyak 3 kali. Ekstrak dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator dan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental (Octaviani *et al.*, 2019). Ekstrak kental yang dihasilkan selanjutnya diencerkan menggunakan DMSO 1% untuk membuat seri konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100% (b/v).

#### 3. Uji bebas etanol

Ekstrak etanol kulit bawang merah yang telah pekat diuji sudah bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif uji bebas etanol jika tidak tercium bau eter yang khas dari etanol. Uji bebas etanol bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri (Kurniawati, 2015)

#### 4. Persiapan Isolat Bakteri

Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dikultur dalam media *modified congo red agar* (MCRA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur pada media MCRA digunakan untuk memastikan kemampuan bakteri dalam membentuk biofilm. Hasil

positif ditunjukkan dengan warna koloni hitam, sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan warna koloni merah (Hou *et al*, 2012).

Koloni yang terindikasi membentuk biofilm dilakukan pewarnaan Gram untuk mengkonfirmasi bakteri *S. aureus* melalui ciri-ciri morfologinya, yaitu bakteri berbentuk kokus bergerombol seperti anggur dan terwarnai keunguan oleh kristal violet saat diamati pada mikroskop. Hasil subkultur dibuat menjadi suspensi bakteri sesuai standar McFarland 0,5 ( $\sim 1,5 \times 10^8$  CFU/mL) dengan pengenceran menggunakan larutan fisiologis NaCl 0,9%.

#### 5. Pembentukan Biofilm

Pembentukan biofilm dilakukan menggunakan metode microtiter *plate assay*. Media TSBG 2,5% (trypticase soy broth +glukosa 2,5%) sebanyak 100  $\mu$ L dimasukkan ke dalam setiap *well-plate*, kemudian ditambahkan suspensi bakteri *S. aureus* sebanyak 100  $\mu$ L. *Well-plate* ditutup dan diinkubasi selama 48 jam pada inkubator bersuhu 37°C agar terbentuk biofilm optimal (Chaerunisa, 2015, Rosyada *et al.*, 2023).

#### 6. Uji Aktivitas Degradasi Biofilm

Suspensi dalam *microplate* dibuang menggunakan mikropipet setelah biofilm terbentuk dan dibilas menggunakan 200  $\mu$ L *Phosphate Buffer Saline* (PBS) sebanyak 3 kali untuk menghilangkan sel-sel planktonik. *Microplate* didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit untuk menghilangkan sisa PBS. Selanjutnya sebanyak 100  $\mu$ L ekstrak etanol kulit bawang merah dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% dimasukkan dalam masing-masing *well*. Selanjutnya tiap *well* tersebut ditambahkan media TSBG 2,5% (trypticase soy broth +glukosa 2,5%) sebanyak 100  $\mu$ L sehingga didapatkan konsentrasi akhir ekstrak pada *well* yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,12%. hal yang sama juga dilakukan untuk kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan kontrol negatif (DMSO 1%), sedangkan pada *well* kontrol pertumbuhan hanya dimasukkan media TSBG 2,5% (trypticase soy broth +glukosa 2,5%) sebanyak 200  $\mu$ L. Seluruh perlakuan direplikasi sebanyak 8 kali. *Microplate* selanjutnya diinkubasi pada inkubator bersuhu 37°C selama 24 jam dan 48 jam.

*Microplate* yang telah diinkubasi kemudian dicuci dengan PBS 200  $\mu$ L sebanyak 3 kali lalu dikeringkan. Setiap *well* selanjutnya diwarnai dengan larutan kristal violet 1% 100  $\mu$ L dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. *Microplate* dicuci kembali dengan cara yang sama seperti sebelumnya dan ditambahkan larutan etanol 96% sebanyak 200  $\mu$ L ke setiap *well* untuk melarutkan biofilm yang terbentuk kemudian diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Pembacaan *Optical Density* (OD) menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 595 nm. Persentase aktivitas degradasi biofilm dapat diukur dengan rumus sebagai berikut (Tobi *et al.*, 2022):

$$\% \text{ degradasi biofilm} = \frac{OD_{KN} - OD_{SE}}{OD_{KN}} \times 100$$

Keterangan : OD KN = OD kontrol negatif; OD SE = OD Sampel eksperimental

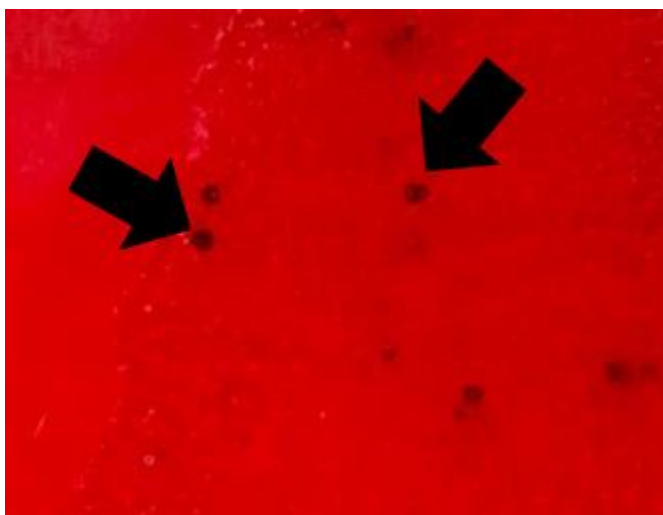
#### Analisis Data

Data persentase degradasi biofilm yang didapatkan selanjutnya dianalisis menggunakan *Two-way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Post hoc* LSD dengan tingkat kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

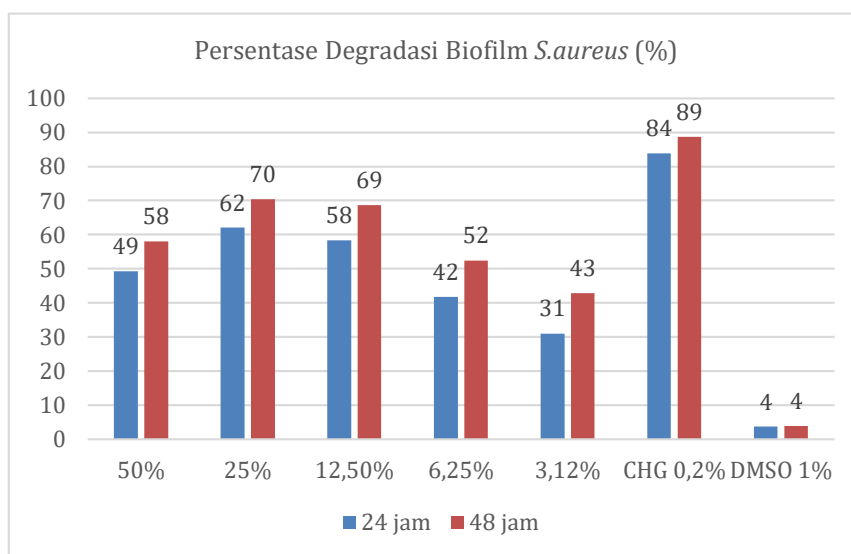
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibiofilm ekstrak kulit bawang merah dalam mendegradasi biofilm *S.aureus*. Ekstrak kulit bawang merah dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil rendemen ekstrak yang didapatkan sebanyak 32,6% dari 500 gram bubuk simplisia. Hasil ekstraksi selanjutnya dilakukan uji bebas etanol untuk memastikan tidak adanya etanol yang tersisa dalam ekstrak. Hasilnya menunjukkan tidak tercium bau eter yang khas dari etanol sehingga dapat disimpulkan ekstrak bebas etanol.

Pada penelitian ini, *S.aureus* ditanam terlebih dahulu pada media MCRA untuk mengkonfirmasi *S.aureus* yang digunakan mampu menghasilkan biofilm. Hasilnya menunjukkan koloni *S.aureus* berwarna hitam pekat yang mengindikasikan kemampuannya memproduksi biofilm (Gambar 1). Mariana *et al.* (2009) melaporkan bahwa *S.aureus* yang mampu memproduksi *polysaccharide intercellular adhesin* (PIA) akan memiliki warna koloni hitam pada media MCRA. PIA merupakan molekul penting yang berperan dalam proses adhesi antar sel bakteri dan diperlukan selama pembentukan biofilm (Moghadam *et al.*, 2014).



Gambar 1. Koloni *S.aureus* Berwarna Hitam Yang Mengindikasikan Mampu Memproduksi Biofilm

Bakteri *S.aureus* kemudian digunakan dalam uji antibiofilm dengan metode *microplate assay*. Biofilm *S.aureus* yang terbentuk diuji dengan ekstrak etanol kulit bawang merah, *chlorhexidine gluconate* 0,2%, dan DMSO 1%. Aktivitas degradasi biofilm *S.aureus* dievaluasi setelah durasi paparan selama 24 jam dan 48 jam, dan hasilnya dinyatakan dalam persentase degradasi biofilm berdasarkan nilai *optical density* (OD). Hasil uji degradasi biofilm tersaji pada gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2 Persentase Degradasi Biofilm *S.aureus* dengan Durasi Paparan 24 Jam dan 48 Jam

Hasil perhitungan menunjukkan persentase degradasi biofilm tertinggi diperoleh pada kelompok kontrol positif (*chlorhexidine gluconate* 0,2%), sedangkan persentase terendah diperoleh pada kelompok kontrol negatif (DMSO 1%) baik pada durasi paparan 24 jam maupun 48 jam (Gambar 2). Kemampuan *chlorhexidine gluconate* 0,2% (CHG) dalam mendegradasi biofilm *S.aureus* diduga dipengaruhi oleh strukturnya berupa bi-kationik yang mampu berikatan dengan matriks ekstraseluler bakteri dan permukaan bakteri yang bermuatan negatif (Mathur, 2011). Molekul kationik (positif) CHG berikatan dan merusak struktur matriks ekstraseluler biofilm. Rusaknya matriks ekstraseluler biofilm menyebabkan CHG mudah berdifusi ke lapisan lebih dalam dari biofilm dan selanjutnya berikatan dengan permukaan bakteri didalam biofilm dan menyebabkan kematian bakteri akibat kebocoran membran (Shen *et.al.*, 2016, Junior *et al.*, 2015). Sementara DMSO 1% menunjukkan persentase degradasi paling rendah dan aktivitasnya tidak berbeda antara durasi paparan 24 jam dan 48 jam. Hal ini dikarenakan DMSO 1% merupakan pelarut organik dan tidak memiliki sifat antibakteri (Rachmawati *et al.*, 2015; Rahmi dan Putri, 2020).

Hasil perhitungan persentase degradasi biofilm menunjukkan ekstrak kulit bawang merah memiliki aktivitas degradasi biofilm (Gambar 2). Hal ini membuktikan bahwa dalam ekstrak kulit bawang merah mengandung senyawa aktif fitokimia yang mampu menghancurkan biofilm *S.aureus*. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak kulit bawang merah mengandung senyawa fitokimia berupa flavonoid, saponin, fenol, tanin, alkaloid, dan steroid yang aktif sebagai antibakteri dan antibiofilm (Misna dan Diana, 2016; Octaviani *et al.*, 2019; Rosyada *et al.*, 2023). Senyawa-senyawa fitokimia tersebut mampu berperan sebagai antibiofilm melalui berbagai mekanisme yang dapat menghancurkan komponen matriks ekstraseluler biofilm, mengganggu *quorum-sensing* (komunikasi) bakteri sehingga menyebabkan pelemahan biofilm, serta menyebabkan kematian sel bakteri dalam biofilm (Rosyada *et al.*, 2023; Kining *et.al.*, 2016; Dewantari, 2018; Rosmalinda *et al.*, 2019).

Aktivitas degradasi biofilm kelompok ekstrak etanol kulit bawang merah menunjukkan adanya peningkatan aktivitas degradasi biofilm seiring peningkatan

konsentrasi, kecuali pada konsentrasi 50%. Hal ini diduga terjadi karena peningkatan konsentrasi ekstrak akan diikuti oleh peningkatan kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak dan aktivitas antibiofilmnya. Namun, jika jumlah senyawa aktif yang larut dalam ekstrak terlalu tinggi atau mencapai konsentrasi yang berlebihan, maka dapat menyebabkan kejenuhan yang berdampak pada kemampuan antimikroba suatu ekstrak (Rosyada *et al*, 2023). Hal ini dapat terlihat pada kelompok ekstrak 50% yang menunjukkan aktivitas degradasi biofilm tidak mengalami peningkatan meskipun konsentrasi ekstrak telah ditingkatkan.

Data degradasi biofilm di atas selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan uji *Two way* ANOVA. Hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antar kelompok baik berdasarkan perlakuan maupun durasi paparan ( $p < 0,005$ ). Perbedaan signifikan juga ditunjukkan pada analisis interaksi antara perlakuan dan durasi paparan (Tabel 1). Data selanjutnya dianalisis menggunakan uji *Post hoc* LSD (Tabel 2 dan 3).

Tabel 1. Hasil Uji *Two way* ANOVA

Kelompok	Jumlah Kuadrat	df	Rerata Kuadrat	F	Sig.
Perlakuan	65164.149	6	10860.692	620.003	.000*
Waktu inkubasi	1721.735	1	1721.735	98.288	.000*
Perlakuan * Waktu inkubasi	390.614	6	65.102	3.716	.002*

\* terdapat perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

Tabel 2. Hasil Uji *Post hoc* LSD Durasi Paparan 24 Jam

No.	Kelompok (N = 8)	<i>p-value</i> Uji LSD						
		EKBM 50%	EKBM 25%	EKBM 12,5%	EKBM 6,25%	EKBM 3,12%	CHG 0,2%	DMSO 1%
1.	EKBM 50%		0,003*	0,006*	0,006*	0,001*	0,001*	0,001*
2.	EKBM 25%			0,052	0,001*	0,001*	0,001*	0,001*
3.	EKBM 12,5%				0,001*	0,001*	0,001*	0,001*
4.	EKBM 6,25%					0,001*	0,001*	0,001*
5.	EKBM 3,12%						0,001*	0,001*
7.	CHG 0,2%							0,001*
8.	DMSO 1%							

Keterangan:

EKBM: Ekstrak etanol kulit bawang merah

N: Pengulangan

\*: Terdapat perbedaan yang signifikan antarkelompok ( $p < 0,05$ )



Tabel 3. Hasil Uji *Post hoc* LSD Durasi Paparan 48 Jam

No.	Kelompok (N = 8)	<i>p-value</i> Uji <i>LSD</i>						
		EKBM 50%	EKBM 25%	EKBM 12,5%	EKBM 6,25%	EKBM 3,12%	CHG 0,2%	DMSO 1%
1.	EKBM 50%		0,001*	0,001*	0,024*	0,001*	0,001*	0,001*
2.	EKBM 25%			0,431	0,001*	0,001*	0,001*	0,001*
3.	EKBM 12,5%				0,001*	0,001*	0,001*	0,001*
4.	EKBM 6,25%					0,002*	0,001*	0,001*
5.	EKBM 3,12%						0,001*	0,001*
7.	CHG 0,2%							0,001*
8.	DMSO 1%							

Keterangan:

EKBM: Ekstrak etanol kulit bawang merah

N: Pengulangan

\*: Terdapat perbedaan yang signifikan antarkelompok ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan uji *Post hoc* LSD (Tabel 2 dan 3) dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan diantara kelompok-kelompok perlakuan baik pada durasi paparan 24 jam dan 48 jam ( $p < 0,005$ ), kecuali antara perlakuan 25% dan 12,5%. Hal ini sejalan dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa keberhasilan senyawa antibakteri dalam mendegradasi biofilm dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti konsentrasi, durasi paparan, tingkat kematangan biofilm serta resistensi bakteri. Studi yang dilakukan oleh Schmidt *et al.* (2018) menunjukkan bahwa antibakteri CHG dengan berbagai konsentrasi dan waktu paparan memiliki efektivitas yang berbeda dalam mendegradasi biofilm *Staphylococcus epidermidis* dalam uji in vitro. Junior *et al* (2015) juga melaporkan bahwa durasi paparan senyawa antimikroba memiliki pengaruh terhadap indeks plak gigi (dental biofilm), semakin lama durasi semakin turun indeks biofilm giginya.

Tingkat kematangan biofilm juga dapat memengaruhi efektivitas antimikroba dalam mendegradasi biofilm. Hal ini dikarenakan biofilm berperan sebagai penghalang fisik dan melindungi bakteri dari serangan sel imun inang atau agen antimikroba (Zhang *et al.*, 2020). Pada tahap awal infeksi, ketika biofilm belum matang, infeksi dapat diatasi dengan pemberian antibiotik sistemik standar. Namun, setelah biofilm matang, antibiotik standar akan sulit untuk membasmi bakteri di dalam biofilm (Tomizawa *et al.*, 2021). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian mengenai aktivitas ekstrak kulit bawang merah dalam menghambat pembentukan biofilm yang dilakukan pada penelitian Rosyada *et al* (2023) dibandingkan dengan aktivitas degradasi biofilm *S.aureus* penelitian ini.

Persentase degradasi biofilm *S.aureus* oleh ekstrak etanol kulit bawang merah pada penelitian ini tampak lebih rendah dibandingkan persentase penghambatan biofilm pada penelitian Rosyada *et al* (2023). Pada penelitian ini, *S.aureus* telah membentuk biofilm yang selanjutnya dilakukan degradasi. Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol kulit bawang merah konsentrasi 25% mampu mendegradasi biofilm *S.aureus* sebesar 62% pada inkubasi 24 jam serta sebesar 70% pada inkubasi 48 jam. Sementara aktivitas penghambatan biofilm *S.aureus* yang dilaporkan oleh Rosyada *et al* (2023) menunjukkan ekstrak etanol kulit bawang merah pada konsentrasi 25% mampu menghambat biofilm *S.aureus* hingga 92% dan sebanding dengan kontrol positif (*chlorhexidine gluconate* 0,2%). Hal yang sama juga dilaporkan pada penelitian Jantorn *et al* (2023) yang menunjukkan *Minimum Biofilm Inhibitory Concentrations* (MBIC) dari ekstrak daun sirih (*Piper betle*) terdapat pada kisaran

125 µg/ml hingga 250 µg/ml, sedangkan *Minimum Biofilm Eradication Concentration* (MBEC) dimulai pada konsentrasi 2000 µg/ml, 8 kali lebih tinggi dibandingkan konsentrasi MBICnya. Hal ini diduga terjadi karena matriks ekstraseluler biofilm yang telah terbentuk membatasi penetrasi zat antimikroba sehingga menyulitkan zat tersebut untuk mencapai dan membunuh bakteri di dalam biofilm. Sementara pada aktivitas penghambatan pembentukan biofilm, zat antimikroba masih dapat menargetkan perlekatan awal dan pertumbuhan bakteri yang cenderung lebih mudah diakses oleh agen antimikroba (Hawas et al, 2020). Selain itu, bakteri dalam biofilm matur juga diduga mengembangkan resistensi intrinsik terhadap antimikroba melalui proses *quorum sensing* sehingga semakin mempersulit upaya mendegradasi biofilm (Khan et al., 2021).

Pada penelitian ini, ekstrak etanol kulit bawang merah konsentrasi 25 % dan 12,5% memiliki kemampuan yang cukup efektif dalam mendegradasi biofilm *S. aureus* karena nilai persentase degradasi biofilm yang dihasilkan lebih dari 50%. Walaupun kemampuannya tersebut masih belum menyamai *Chlorheksidine glukonat* 0,2%, ekstrak etanol kulit bawang merah berpotensi untuk dijadikan sebagai terapi alternatif pengurangan dental biofilm terutama yang disebabkan oleh *S.aureus*.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit bawang merah memiliki aktivitas dalam mendegradasi biofilm *S. aureus* ATCC 25923 dengan aktivitas tertinggi pada konsentrasi 25% namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 12,5% dengan 25%. Kemampuan ekstrak etanol kulit bawang merah dalam mendegradasi biofilm *S.aureus* masih belum dapat menyamai kemampuan *chlorhexidine gluconate* 0,2%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segenap penulis menyampaikan terima kasih kepada Universitas Jenderal Soedirman yang telah membantu penelitian ini melalui hibah penelitian dosen Skema Peningkatan Kompetensi untuk tahun anggaran 2022 serta semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aoun, G., Saadeh, M., Berberi, A. 2015. Effectiveness of hexetidine 0.1% compared to chlorhexidine digluconate 0.12% in eliminating *Candida Albicans* colonizing dentures: A randomized clinical in vivo study. *J. Int. Oral Health*. 7(8): 5–8.
- Chaerunisa, R. 2015. Aktivitas penghambatan pembentukan dan penghancuran biofilm ekstrak metanol daun jambang (*Syzygium cumini* L. Skeels) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Dewantari, M.R., 2018. Uji Potensi Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum*) sebagai Penghambatan pembentukan Biofilm *Pseudomonas aeruginosa* secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang.
- Granicher, K.A., Karygianni, L., Attin, T., Thurnheer, T. 2021. Low concentrations of chlorhexidine inhibit the formation and structural integrity of enzyme-treated multispecies oral biofilms. *Frontiers*.12(741863): 1-10.

- Hawas, S., Verderosa, A. D., dan Totsika, M. 2022. Combination therapies for biofilm inhibition and eradication: a comparative review of laboratory and preclinical studies. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*. 12: 850030.
- Hou, W., Sun, X., Wang, Z., Zhang, Y. 2012. Biofilm-forming capacity of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* from ocular infections. *IOVS*. 53(9): 5624-5631.
- Jantorn, P., Tipmanee, V., Wanna, W., Prapasarakul, N., Visutthi M., dan Sotthibandhu, D. S. 2023. Potential natural antimicrobial and antibiofilm properties of Piper betle L. against *Staphylococcus pseudintermedius* and methicillin-resistant strains. *Journal of Ethnopharmacology*. 317 : 116820.
- Jeddy, N., Ravi, S., Radhika, T., Sai Lakshmi, L. J. 2018. Comparison of the efficacy of herbal mouth rinse with commercially available mouth rinses: A clinical trial. *Journal of oral and maxillofacial pathology JOMFP*. 22(3): 332–334.
- Junior, J.C.E.M., Nunes, L.H., Arruda, C.S., Mouchrek, A.Q., Tavarez, R.R., Tonetto, M.R., Bandeca, M.C. and Maia Filho, E.M., 2015. Effectiveness of oral antiseptics on tooth biofilm: a study in vivo. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 16(8): 674-678.
- Khan, J., Tarar, S. M., Gul, I., Nawaz, U., dan Arshad, M. 2021. Challenges of antibiotic resistance biofilms and potential combating strategies: a review. *3 Biotech*. 11(4): 169.
- Kining, E., Falah, S., dan Nurhidayat, N. 2016. The in vitro antibiofilm activity of water leaf extract of papaya (*Carica papaya* L.) against *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Biochemistry*. 2(3): 150-163
- Kurniawati, E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*. 2 (2) : 193-199.
- Leonarto MN, Habar EH. 2017. The impact of mouth-rinsing using chlorhexidine gluconate 0.2% to the amount of plaquecausing bacteria colonies in fixed orthodontic users. *Journal of Dentomaxillofacial Science* 1(3): 91-94.
- Manson, J.D., Eley, B.M., Soory, M. 2013. Buku Ajar Periodonti. Edisi 2. Jakarta. Hipokrates.
- Mariana , N. S., Salman, S.A., Neela, V., dan Zamberi, S. 2009. Evaluation of modified Congo red agar for detection of biofilm produced by clinical isolates of methicillin–resistance *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Microbiology Research*. 3(6): 330-338
- Mathur S, mathur T, shrivastava R, khatri R. 2011. Chlorhexidine:The gold standard in chemical plaque control. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. 1(2): 45–50.
- Misna, dan Diana, K. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *GALENKA Journal of Pharmacy*. 2(2): 138-144.

- Moghadam, S. O., Pourmand, M. R., dan Aminharati, F. 2014. Biofilm formation and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients, Iran. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 8(12): 1511-1517.
- Newman, M.G. Takei, H.H. Klokkevold, P.R. Carranza, F.A. 2019. Newman and Carranza's Clinical Periodontology. 13 Ed. Philadelphia: Elsevier
- Octaviani, M., Fadhli, H., dan Yuneistya, E. 2019. Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol dari kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan metode difusi cakram. *Pharm Sci Res*. 6(1): 62–68.
- Rachmawati, H.D., Aprilia, dan Parisihni, K., 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *acanthus ilicifolius* terhadap biofilm *Enterococcus faecalis*. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. 9(2): 136-145
- Rahmi, M., dan Putri, D.H., 2020. The antimicrobial activity of DMSO as a natural extract solvent. *Serambi Biologi*. 5(2): pp. 56-58
- Rosmalinda, U., Aini, S.R., dan Wirasisya, D.G., 2019. Aktivitas antibiofilm jarak pagar (*Jatropha curcas* L) pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Natural B*. 5(1): 7-12
- Rosyada, A.G., Prihastuti, C.C., Sari, D.N.I, Setiawati, Ichsyani, M., Laksitasari, A., Andini, R.F., Kurniawan, A.A. 2023. Aktivitas antibiofilm ekstrak etanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: penelitian eksperimental laboratoris. *J Ked Gi*. 35 (1): 33-40.
- Schmidt, K., Estes, C., McLaren, A., dan Spangehl, M. J. 2018. Chlorhexidine antiseptic irrigation eradicates *staphylococcus epidermidis* from biofilm: an in vitro study. *Clinical orthopaedics and related research*. 476(3) : 648–653.
- Shen, Y., Zhao, J., Fuente-Nunez, C.D.L., et.al., 2016. Experimental and theoretical investigation of multispecies oral biofilm resistance to chlorhexidine treatment. *Scientific Reports*. 6(1): 1-13
- Tobi, C.H.B., Saptarini, O., dan Rahmawati, I., 2022. Aktivitas antibiofilm ekstrak dan fraksi-fraksi biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 7(1): 56-70
- Tomizawa T, Nishitani K, Ito H, Okae Y, Morita Y, Doi K, Saito M, Ishie S, Yoshida S, Murata K, Yoshitomi H, Kuroda Y, Matsuda S. 2021. The limitations of mono- and combination antibiotic therapies on immature biofilms in a murine model of implant-associated osteomyelitis. *J Orthop Res*. 39(2):449-457.
- Yu, O. Y., Zhao, I. S., Mei, M. L., Lo, E. C. M., Chu, C. H. 2017. Dental biofilm and laboratory microbial culture models for cariology research. *Dentistry Journal*. 5(2): 1-12.
- Zhang K., Li X., Yu C., Wang Y. 2020. Promising therapeutic strategies against microbial biofilm challenges. *Front. Cell Infect. Microbiol*. 10 : 359.