

## **AKTIVITAS ANTIBIOFILM PROPOLIS LEBAH MADU TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

### ***THE ACTIVITY OF ANTI-BIOFILM PROPOLIS WITH THE BACTERIA OF *Pseudomonas aeruginosa****

**Fadila Milenia Purnama<sup>1</sup>, Rani Afifah Nur Hestiyani<sup>2</sup>, Anriani Puspita Karunia  
Ning Widhi<sup>2</sup>, Wahyudin<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia*

<sup>2</sup>*Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman,  
Purwokerto, Indonesia*

<sup>3</sup>*Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman,  
Purwokerto, Indonesia*

#### **ABSTRAK**

Latarbelakang: Jumlah kematian akibat infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mencapai 50% tergantung dari jenis infeksi. *P.aeruginosa* dapat ditemukan pada berbagai lingkungan salah satunya lingkungan rumah sakit, dengan angka kejadian sekitar 10-15%. *P.aeruginosa* merupakan salah satu bakteri yang sulit untuk diobati karena kemampuannya dalam membentuk biofilm. Propolis merupakan resin alami yang mengandung flavonoid, fenol dan terpenoid yang dapat digunakan sebagai antibiofilm. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibiofilm propolis dalam menghambat pembentukan biofilm *P. aeruginosa*. Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laborator *in vitro* dengan rancangan *post-test only control group design*. Jumlah sampel ditentukan dengan rumus Federer, dimana sampel dalam penelitian ini berjumlah 4 perkelompok. Propolis dilarutkan menggunakan akuades sehingga konsentrasi menjadi 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%. Penghambatan pembentukan biofilm diukur menggunakan *microtiter plate assay* dengan panjang gelombang 620 nm. Hasil: Propolis dapat menghambat pembentukan biofilm sebesar 19,67% pada konsentrasi 0,78%. Pada konsentrasi 1,56%, 3,125%, 6,25%, serta 12,5% tidak dapat menghambat pembentukan biofilm pada konsentrasi tinggi lainnya dikarenakan viskositas dari propolis yang tinggi dan adanya kandungan lain dari propolis yang mungkin dapat menginisiasi pembentukan biofilm. Kesimpulan: Propolis memiliki aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *P.aeruginosa* pada konsentrasi 0,78%.

**Kata kunci:** Propolis, biofilm, antibiofilm, *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **ABSTRACT**

*Background: The number deaths of the infection effect from the bacterium Pseudomonas aeruginosa reaches 50% depending on the type of infection. The P.aeruginosa can be found in various environments, one of which is the hospital, with an incidence around 10-15%. P.aeruginosa is one of the bacteria that is difficult to treat*

because of its ability to form biofilm. Propolis is a natural resin containing flavonoid, fenol and terpenoid which used as antibiofilm. This study aims to examine the antibiofilm activity of propolis in inhibiting the formation of *P. aeruginosa* biofilm. Methods: This study is an *in vitro* laboratory experimental with a post-test only control group design. The number of samples was determined by the federer formula, where the samples in this study were 4 per groups. The propolis dissolved using aquades with the result the concentration became 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%, 0.78%. The proces of of inhibition of biofilm formation was measured using a microtiter plate assay with a wavelength of 620 nm. Results: Propolis can inhibit biofilm formation by 19.67% at a concentration of 0.78%. However, the proces cannot inhibit biofilm formation at other high concentrations because of the high viscosity of propolis, and the presence of other propolis ingredients which may be able to initiate biofilm formation. Conclusion: Propolis has antibiofilm activity against *P.aeruginosa* bacteria at a concentration of 0.78%..

**Keywords:** Propolis, biofilm, anti-biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*.

---

**Penulis korespondesi:**

Fadila Milenia Purnama,  
Universitas Jenderal Soedirman,  
Purwokerto, Jawa Tengah Indonesia  
Email: fadila.purnama@mhs.unsoed.ac.id

## PENDAHULUAN

World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa pada tahun 2014 penyakit infeksi masih menyerang 9,6 juta orang dan menyebabkan 1,2 juta kematian diseluruh dunia terutama pada balita (WHO, 2015). Penyakit akibat infeksi merupakan keadaan dimana mikroorganisme seperti bakteri, fungi, parasit serta virus masuk dan berkembang biak ke dalam tubuh sehingga menimbulkan penyakit. Penyakit infeksi terjadi ketika interaksi dengan mikroba menyebabkan kerusakan pada tubuh host dan kerusakan tersebut menimbulkan berbagai gejala serta tanda klinis (Novard *et al.*, 2019). Salah satu bakteri penyebab infeksi yang dapat menyebabkan tingginya angka kesakitan dan kematian adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Jumlah kematian akibat infeksi yang disebabkan oleh *P.aeruginosa* mencapai 50% tergantung dari jenis infeksi (Noviyanto *et al.*, 2020).

*P.aeruginosa* dapat ditemukan pada berbagai lingkungan seperti pada lingkungan rumah sakit. Bakteri ini menjadi penyebab infeksi nosokomial, infeksi pada pasien dengan luka bakar, infeksi pada pasien yang menggunakan kateter/infus, serta infeksi *P.aeruginosa* dapat menjadi penyebab komplikasi pasca tindakan operasi. Angka kejadian infeksi nasokomial di rumah sakit yang disebabkan *P.aeruginosa* di dunia tercatat sebesar 10%-15% (Strateva & Yordanov, 2009). *P.aeruginosa* menyebabkan infeksi saluran kemih

di rumah sakit sebesar 7 - 10 %. Sekitar 10 – 20 % infeksi *P.aeruginosa* terjadi pada pasien sepsitemia di unit perawatan intensif (ICU) (Adheline, 2019).

*P.aeruginosa* termasuk patogen yang sulit diobati, resistensinya terhadap beberapa antibiotik seringkali menyebabkan kegagalan pengobatan sehingga sering dikaitkan dengan penyebab utama kematian (Ekawati *et al.*, 2018). Resistensi disebabkan oleh adanya biofilm yang dimiliki bakteri tersebut. *P.aeruginosa* merupakan bakteri yang dapat dengan mudah membentuk biofilm hanya dalam kurun waktu 24 jam (Wangi *et al.*, 2017). *P.aeruginosa* memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm pada permukaan peralatan seperti pada infus maupun kateter (Rahminiwati *et al.*, 2020). Matriks biofilm yang sebagian besar tersusun atas eksopolisakarida menjadikannya sebagai penghalang fisik terhadap difusi antimikroba maupun fagositosis. Hal ini menyebabkan resistensi antibiotik karena penetrasi antibiotik ke dalam matriks ekstraseluler biofilm menjadi sulit dan menyebabkan infeksi kronis pada pasien. Hingga saat ini belum ada obat yang secara spesifik berperan sebagai antibiofilm bakteri. Maka dari itu diperlukan pengembangan agen antibiofilm lebih lanjut untuk mengatasi masalah tersebut (Sanjaya, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Wangi *et al* (2017) biofilm pada *P.aeruginosa* terbukti dapat dihambat pertumbuhannya dengan menggunakan ekstrak metanol bawang putih (*Allium sativum*) dengan konsentrasi minimum 0,3468 mg/mL (konsentrasi 30 %). Ada potensi lain dari keragaman yang ada di Indonesia, yang berpotensi dapat digunakan sebagai antibiofilm dengan konsentrasi yang lebih kecil, salah satunya yaitu dengan menggunakan propolis. Propolis merupakan resin alami yang diproduksi oleh lebah madu sebagai hasil pengumpulan bahan dari tanaman yang berbeda yang digunakan oleh lebah untuk pembuatan dan perbaikan sarang sekaligus digunakan untuk proteksi terhadap ancaman dari luar. Salah satu kandungan propolis yaitu flavonoid yang berperan sebagai antibiofilm. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Vasavi *et al* (2014) juga membuktikan bahwa flavonoid mampu menghambat mekanisme Quorum Sensing (QS) pada fase awal pembentukan dari biofilm. Propolis memiliki aktivitas antibiofilm dengan menghambat pertumbuhan bakteri melalui penghambatan fungsi membran sel serta metabolisme energi (Sapara *et al.*, 2016).

Sampai saat ini sudah banyak dilakukan penelitian yang membahas mengenai aktivitas antibiofilm namun belum terdapat penelitian mengenai pemanfaatan propolis sebagai antibiofilm pada bakteri *P.aeruginosa*. Berdasarkan latar belakang tersebut penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antibiofilm propolis terhadap bakteri *P.aeruginosa*

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium (*true eksperimental*). Populasi penelitian ini adalah bakteri *P.aeruginosa* dan sampel penelitian ini berupa biofilm *P.aeruginosa* yang ditumbuhkan pada microplate. Sampel dibagi menjadi 8 kelompok, yaitu kelompok perlakuan propolis (konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78 dan 0 %), kontrol media steril dan kontrol isopropanol. Setiap kelompok sampel memiliki 4 pengulangan dalam satu mikroplate.

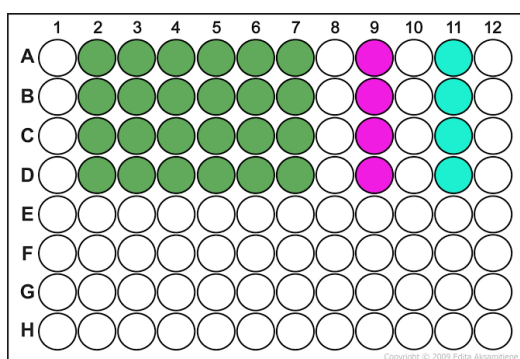
## Alat dan Bahan

Alat penelitian yang digunakan adalah autoklaf, inkubator, ELISA reader dengan  $\lambda$  620 nm, mikrotiter plate flat-bottom 96 wells, pipet tetes, tabung reaksi, mikroskop, lampu

spiritus, cawan petri, jarum ose, termometer, gelas ukur, dan pipet. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain propolis cair merek british propolis, akuades, kultur *Pseudomonas aeruginosa* koleksi laboratorium mikrobiologi, kalium iodida, kristal violet, safranin, alkohol aseton, minyak emersi, medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), medium Sulfide Indole Motility (SIM) Agar, larutan PBS pH 7 sebanyak 200 $\mu$ L, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, dan etanol 96%.

### Jalannya Penelitian

Penelitian dimulai dengan penstwiran alat dan bahan menggunakan autoklaf. Sampel penelitian disiapkan dengan menumbuhkan *P.aeruginosa* pada media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) selama 24 jam didalam inkubator bersuhu 37 °C. Hasil subkultur kemudian dilakukan pewarnaan Gram untuk mengonfirmasi bakteri *P.aeruginosa* melalui ciri-ciri morfologisnya yaitu bakteri Gram negatif, berbentuk basil/batang, dan terwarnai merah dibawah mikroskop. Hasil subkultur dibuat menjadi suspensi bakteri sesuai dengan standar Mcfarland dengan kepadatan bakteri sebanyak 10<sup>8</sup> sel/ml, yang kemudian diencerkan kembali 100x hingga kepadatan bakteri menjadi 10<sup>6</sup> sel/ml dengan pengenceran menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,9%. Uji penghambatan pembentukan biofilm dilakukan dengan cara menanam media TSB (*trypticase soy broth*) dan larutan uji sesuai dengan denah mikroplate (Gambar 1).



**Gambar 1.** Denah microplate

Keterangan: 2 A-D = TSBG + suspensi bakteri + ekstrak konsentasi 12,5 %; 3 A-D = TSBG + suspensi bakteri + ekstrak konsentasi 6,25 %; 4 A-D = TSBG + suspensi bakteri + ekstrak konsentasi 3,125 %; 5 A-D = TSBG + suspensi bakteri + ekstrak konsentasi 1,56 %; 6 A-D = TSBG + suspensi bakteri + ekstrak konsentasi 0,78 %; 7 A-D = TSBG + suspensi bakteri + ekstrak konsentasi 0%; 9 A-D = Kontrol isopropanol; 11 A-D = Hanya media TSBG (Kontrol media steril)

### Analisis Data

#### Analisis Univariat

Pada analisa unvariat digunakan untuk mendeskripsikan variabel terikat yaitu biofilm *P.aeruginosa* yang terbentuk pada semua konsentrasi.

#### Analisis Bivariat

Analisis bivariat digunakan untuk menentukan adanya efek penghambatan pembentuntukan biofilm *P.aeruginosa* oleh ekstrak propolis. Jenis uji yang digunakan pada penelitian ini adalah Uji *One Way Anova*, dan uji normalitas yang digunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel < 50. Kemudian menggunakan uji anaisis post hoc uji *Tamhane*.

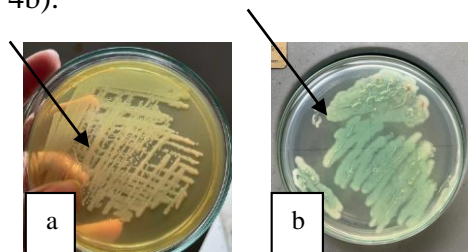
## HASIL

Hasil penelitian yang didapatkan berupa data identifikasi bakteri uji meliputi: pengamatan koloni, sel dan biokimia, serta hasil uji penghambatan biofilm oleh propolis terhadap bakteri *P.aeruginosa*.

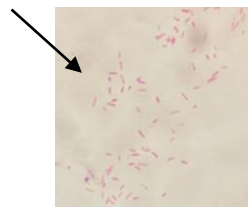
### 1. Identifikasi Bakteri Uji

Hasil pengamatan pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA) ditemukan koloni tampak besar, pipih, berwarna putih abu-abu, bau tidak sedap, tepi tidak teratur, dan menghasilkan pigmen berwarna biru-kehijauan *pyocyanin* (Gambar 2.a). Hasil pengamatan pada media MHA (*Muller Hinton Agar*) ditemukan koloni berbentuk bulat, dengan ukuran sedang-kecil, tepi rata, elevasi cembung dan berwarna kuning hijau (gambar 2.b). Pewarnaan Gram pada *P.aeruginosa* didapatkan hasil Gram negatif karena pada saat pengamatan menggunakan mikroskop didapatkan sel berwarna merah. Bentuk sel nya basil atau batang dengan susunan sel tunggal atau berpasangan (Gambar 3).

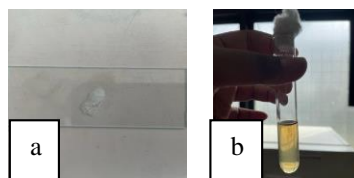
Hasil uji katalase pada *P.aeruginosa* menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung udara (Gambar 4a) dan hasil pengujian uji motilitas *P.aeruginosa* dengan menggunakan media *Sulfit Indol Motility* (SIM) didapatkan hasil positif karena ditemukan ada keruhan pada bekas tusukan (Gambar 4b).



**Gambar 2** (a) Morfologi koloni *P. aeruginosa* pada media MHA dan (b) pigmen *pyocyanin* pada morfologi koloni *P.aeruginosa* di media PSA



**Gambar 3** Bakteri Gram negatif berbentuk basil berwarna merah.



**Gambar 4** Uji Biokimia : (a) Uji Katalase *P.aeruginosa* (b) Uji Motilitas *P.aeruginosa* pada media SIM agar

## 2. Gambaran Biofilm *Pseudomonas aeruginosa*

**Tabel 1** Hasil Pengukuran *Optical Density* (OD) yang Menggambarkan Biofilm dari *P. aeruginosa*

Kelompok	Sampel-1	Sampel-2	Sampel-3	Sampel-4	Rerata
Propolis 12,5%	1,5	1,453	1,769	1,359	1,52025
Propolis 6,25%	1,198	1,046	0,881	1,121	1,0615
Propolis 3,125%	0,817	0,653	0,643	0,951	0,766
Propolis 1,56%	0,293	0,283	0,343	0,431	0,3375
Propolis 0,78%	0,178	0,282	0,227	0,207	0,2235
Propolis 0%	0,208	0,237	0,351	0,317	0,27825
Isopropanolol	0,053	0,05	0,048	0,049	0,05
Media Steril	0,074	0,101	0,061	0,057	0,07325

Tabel di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi propolis yang diberikan, semakin besar juga OD yang dihasilkan.

## 3. Penghambatan Pembentukan Biofilm *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil pembacaan *microplate reader* dengan menggunakan rumus presentase penghambatan biofilm. Hasil perhitungan presentase penghambatan dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2** Persentase Penghambatan Propolis terhadap biofilm *P.aeruginosa*

Kelompok	Jumlah Sampel	Rata-Rata OD	% Penghambatan
0%	4	0,27825	0%
0,78%	4	0,2235	19,67%
1,56%	4	0,3375	-21,29%
3,125%	4	0,766	-175%
6,25%	4	1,0615	-281,4%
12,5%	4	1,52025	-446,361%

Berdasarkan tabel 2 dapat dilihat bahwa mulai terlihat penghambatan pembentukan biofilm pada konsentrasi 0,78% yaitu 19,67% sedangkan pada konsentrasi yang tinggi tidak terdapat penghambatan.

## PEMBAHASAN

Hasil identifikasi koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media PSA didapatkan koloni bakteri menghasilkan pigmen warna biru kehijauan atau biasa disebut *Pyocyanin* (Jawetz *et al.*, 2019). Pada media MHA koloni tampak berwarna kuning kehijauan, dimana pigmen ini tampak sangat jelas terlihat pada saat isolat *P.aeruginosa* ditumbuhkan pada media tanpa darah ataupun indikator pewarna lain (Maza *et al.*, 2020).

Hasil identifikasi morfologi sel dengan menggunakan pewarnaan Gram didapatkan *P. aeruginosa* adalah Gram negatif, dinding sel berwarna merah, berbentuk basil atau batang dengan susunan sel tunggal atau berpasangan. *P.aeruginosa* memiliki lapisan

*aktivitas antibiofilm propolis lebah madu terhadap bakteri pseudomonas aeruginosa* (Fadila Milenia Purnama)

peptidoglikan yang tipis dan lapisan lipid yang tebal sehingga afinitas terhadap pewarna primer kristal violet rendah. Hal ini yang menyebabkan warna ungu pada pewarnaan Gram negatif akan luntur ketika ada proses dekolorisasi dengan alkohol aseton (Rahmadian *et al.*, 2018).

Hasil uji katalase pada *P. aeruginosa* didapatkan hasil positif. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kosasi *et al* (2019) yang menyebutkan bahwa uji katalase positif apabila setelah ditetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> terbentuk gelembung-gelembung oksigen, hal ini menjelaskan bahwa bakteri ini menghasilkan enzim katalase yang merubah *hydrogen peroksida* menjadi air dan oksigen. Bakteri *P.aeruginosa* pada media SIM (*Sulfide Indol Motility*) didapatkan hasil positif. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ismail *et al* (2017) motilitas positif ketika ditemukan pertumbuhan koloni yang menyebar dan terbentuk kekeruhan pada daerah tusukan. Hal ini dikarenakan *P.aeruginosa* memiliki flagel tipe IV yang berfungsi sebagai motilitas.

Secara umum mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri terdiri dari empat mekanisme, yaitu penghambatan sintesis dinding sel, gangguan fungsi membran sel, penghambatan proses sintesis protein, dan penghambatan sintesis asam laktat (Jawetz *et al.*, 2019). Propolis sebagai antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi dua mekanisme yaitu dengan menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Sapara *et al.*, 2016).

Mekanisme propolis dalam menghambat fungsi membran sel yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Kerusakan membran sel bakteri dapat mencegah masuknya nutrisi yang diperlukan bagi bakteri untuk menghasilkan energi hingga dapat menyebabkan kematian pada sel bakteri. Propolis dalam menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. propolis menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat, dimana energi sangat dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul, jika metabolismenya terhambat maka molekul bakteri tidak dapat berkembang menjadi molekul yang kompleks (Sapara *et al.*, 2016).

Kemampuan bakteri *P.aeruginosa* dalam membentuk biofilm diukur dalam bentuk nilai *optical density* (OD) berdasarkan pengukuran menggunakan ELISA reader. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan nilai OD seluruh kelompok memiliki distribusi yang termasuk normal. Hal ini menjadi landasan dilakukannya analisis bivariat dengan menggunakan metode *One Way Anova*. Hasil analisis bivariat menunjukkan bahwa terdapat selisih rerata nilai OD yang signifikan antar kelompok penelitian. Nilai dari OD tersebut dapat diketahui menggunakan analisis *post hoc*. Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa* memiliki variansi yang heterogen, sehingga uji *post hoc* yang tepat digunakan adalah uji Tamhane.

Penelitian ini memiliki hasil bahwa kelompok intervensi propolis 12,5% memiliki rerata nilai OD yang secara signifikan lebih besar daripada kelompok yang tidak mendapatkan intervensi propolis (0%), yaitu selisih sebesar 1,24 ( $p = 0,007$ ). Didapatkan juga kelompok intervensi propolis 6,25% memiliki rerata nilai OD yang secara signifikan lebih besar daripada kelompok yang tidak mendapatkan intervensi propolis (0%), yaitu selisih sebesar 0,78 ( $p = 0,008$ ). Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian propolis sebesar 6,25% dan 12,5% akan meningkatkan kemampuan bakteri *P. aeruginosa* untuk membentuk biofilm. Hasil yang didapatkan juga menunjukkan tidak adanya perbedaan nilai

OD yang signifikan antara kelompok intervensi 3,125%, 1,56%, dan 0% ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian propolis dengan konsentrasi 3,125%, dan 1,56% tidak mampu menghambat pembentukan biofilm *P.aeruginosa*.

Penelitian yang dilakukan oleh Meto *et al.*, (2020) didapatkan hasil yang berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti. Penelitian tersebut mendapati bahwa pemberian ekstrak propolis efektif untuk menghambat pembentukan biofilm pada *P.aeruginosa* (Meto *et al.*, 2020). Namun penelitian tersebut menggunakan propolis dalam bentuk ekstrak etanol, ekstrak propilen glikol, dan ekstrak polietilen glikol. Hal ini berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan peneliti yang menggunakan akuades sebagai pelarut dan propolis yang digunakan merupakan produk komersial yang sudah siap pakai.

Penelitian lain yang dilakukan oleh De Marco *et al.*, (2017) juga mendapati hasil yang berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan peneliti. Penelitian tersebut mendapati bahwa pemberian propolis efektif untuk menghambat kemampuan *P.aeruginosa* dalam membentuk biofilm dengan nilai MIC sebesar 0,0125% (De Marco *et al.*, 2017). Namun penelitian tersebut menggunakan konsentrasi propolis yang jauh lebih rendah daripada penelitian yang telah dilakukan peneliti, yaitu 0,001%, 0,005%, dan 0,01%. Selain itu, biofilm yang terbentuk diukur dalam bentuk massa biofilm (dalam satuan persen) serta menggunakan alat ukur dan panjang gelombang yang juga berbeda. Perbedaan viskositas propolis, instrumen, dan metode pengukuran inilah yang diduga menyebabkan perbedaan pada hasil penelitian yang didapatkan. Adanya perbedaan konsentrasi propolis yang digunakan, maka dilakukan penurunan konsentrasi untuk mengetahui hambatan yang efektif.

Pembentukan biofilm pada *P.aeruginosa* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, komposisi nutrisi yang tersedia, kondisi lingkungan (pH dan suhu), serta senyawa inhibitor yang lain. Tidak dilakukannya penelitian terhadap kandungan yang ada pada propolis, bisa menjadi salah satu penyebab mengapa pada konsentrasi 12,5% dan 6,25% terjadi peningkatan pembentukan biofilm dari bakteri *P.aeruginosa*. Faktor virulensi yang dimiliki *P.aeruginosa* ini juga dapat mempengaruhi kemampuan dari bakteri ini dalam membentuk biofilm serta seringkali membuat bakteri ini menjadi lebih resisten terhadap senyawa antibakteri diantaranya kemampuan *P.aeruginosa* dalam menghasilkan toksin yaitu *pyocyanin*, serta lapisan membran luar yang terdiri atas lipopolisakarida yang tebal.

Pigmen *pyocyanin* pada *P.aeruginosa* merupakan salah satu toksin yang dapat meningkatkan patogenesisnya (Wamik & Alka, 2019). Kemampuan *P.aeruginosa* dalam menghasilkan pigmen *pyocyanin* bisa menjadi penyebab dari tidak terhambatnya pembentukan biofilm pada konsentrasi propolis 12,5% dan 6,25%. Kemampuan dari *pyocyanin* dalam berinteraksi dengan oksigen molekuler untuk membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu hidrogen peroksida, memelopori keseimbangan redoks. Hidrogen peroksida tersebut mengeluarkan sinyal pembentukan eDNA yang merupakan kunci pembentukan biofilm sehingga adanya peningkatan ataupun penurunan dari antioksidan sangat berperan besar dalam pembentukan biofilm dikarenakan tingginya kadar antioksidan dapat menghambat terbentuknya ROS (Das & Manefield, 2012).

Propolis dianggap lebih efisien melawan bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif, hal ini dikarenakan bakteri Gram negatif dalam hal ini *P.aeruginosa* memiliki lapisan Lipopolisakarida yang tebal. Lapisan lipopolisakarida pada *P.aeruginosa* dapat



meningkatkan afinitas dan penyerapan hidrofobik pada bakteri. Hal ini dapat menyebabkan meningkatnya patogenitas dan kemampuan dari bakteri untuk menginvasi dan berkaitan dengan tingginya resistensi terhadap antibiotik serta pembentukan biofilm (Brilian *et al.*, 2022). *P.aeruginosa* juga memiliki tingkat resistensi intrinsik yang tinggi melalui permeabilitas membran luar yang terbatas, sistem efluks yang dapat memompa antibiotik keluar dari dalam sel (Zheng *et al.*, 2019).

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa propolis dapat menghambat pembentukan biofilm pada bakteri *P.aeruginosa* pada konsentrasi 0,78%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adheline, G. D. 2019. Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina*) sebagai Alternatif Antibiotik Infeksi Nosokomial yang Disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*. 6(3): 242-246.
- Das, T & Manefield, M. 2012. Pyocyanin Promotes Extracellular DNA Release in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLOS ONE*. 7(10): 1-9.
- De Marco, S., Piccioni, M., Pagiotti, R., & Pietrella, D. 2017. Antibiofilm and Antioxidant Activity of Propolis and Bud Poplar Resins versus *Pseudomonas aeruginosa*. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM* :1-11
- Ismail, Y S., Cut, Y., Putriani. 2017. Isolasi, karakteristik dan uji aktiitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *BIOLEUSER*. 1(2): 45-53
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2019. *Kedokteran*. ed 28. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. 2019. Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Alga *Turbinaria Ornata* (Turner) J. Agardh Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*. 8(2): 351-359
- Maza, L. M., Marie, T.P., Cassiana, E.B., Ellena, M.P., 2020. *Third Edition Color Atlas of Medical Bacteriology*. Washington DC:ASM PRESS
- Meto, A., Colombari, B., Meto, A., Boaretto, G., Pinetti, D., Marchetti, L., ... Blasi, E. 2020. Propolis Affects *Pseudomonas aeruginosa* Growth, Biofilm Formation, eDNA Release and Phenazine Production: Potential Involvement of Polyphenols. *Microorganisms*. 8(2): 243
- Novard, M.F.A., Suharti, N., & Rasyid, R. 2019. Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 8(2S): 26-32.
- Noviyanto, F., Hodijah, S. and Yusransyah, Y., 2020. Aktivitas Ekstrak Daun Bangle (*zingiber purpureum roxb.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. 2(1): 31-38.
- Rahmadian, C. A., Ismail, I., Abrar, M., Erina, E., Rastina, R., & Fahrimal, Y. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri *Pseudomonas sp* Pada Ikan Asin Di Tempat Pelelangan Ikan Labuhanhaji Aceh Selatan. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. 2(4): 493-502.

- Rahminiwati, M., Ramadhan, J., & Komala, O. 2020. Aktivitas Antimikroorganisme Ekstrak Etanol 70% Biji Bengkuang Terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida Albican*. *Jurnal Sain Veteriner*. 38(3): 289-298.
- Sanjaya, I.G.N.A.P., 2019. Prevalensi Isolat Klinis *Pseudomonas aeruginosa* yang Memiliki Gen lasI dan lasR di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Tahun 2013 – 2016. *E-jurnal Medika* 6(8): 1-7.
- Sapara, T.U., 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*impatiens balsamina l.*) terhadap pertumbuhan *porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon*. 5(4).
- Strateva TV, Yordanov D. 2009. *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. *Journal of Medician Microbiology*. 58(9): 1133-48.
- Wamik, A., & Alka, R. 2019. An overview on biosynthesis and applications of extracellular pyocyanin pigment and its role in *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Annals of Phytomedicine*. 8: 28-42.
- Wangi, R. P. L., Suswati, E., & Wisudanti, D. D. 2017. Aktivitas Ekstrak Metanol Bawang Putih (*Allium sativum*) sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa*. *Pustaka Kesehatan*. 5(3):537-543.
- WHO. 2015. *Indonesia : Who Statistical Profile*. World Health Organization on Behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.
- Zheng, P., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. 2019. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*. 37(1):177-192.