

AKTIVITAS ANTIBIOFILM EKSTRAK ETANOL BUAH PARE (*Momordica charantia*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Iftah Ghina Shafira, Noer Aini, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang dapat membentuk biofilm dengan melekatkan diri pada suatu permukaan, kemudian memperbanyak diri dan membentuk lapisan biofilm. *Momordica charantia* adalah tanaman yang mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, namun efektifitasnya sebagai antibiofilm belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas *Momordica charantia* dalam menghambat pertumbuhan biofilm melalui pendekatan *in vitro*.

Metode: Ekstraksi *Momordica charantia* (EMC) pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi dilakukan uji aktivitas antibiofilm menggunakan metode *direct microscopic observation* dengan cara mengukur jumlah mikrokoloni dan presentase area pada biofilm. Uji statistik menggunakan *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Penelitian ini menggunakan 3 kali ulangan biologis, dengan 10 lapang pandang untuk pengamatan mikroskopis.

Hasil: EMC dapat menurunkan jumlah mikrokoloni dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan dengan jumlah mikrokoloni pada konsentrasi 100.000, 200.000 dan 400.000 ppm secara berturut-turut sebesar $1591 \pm 331,16$ Unit cell; $561,33 \pm 41,04$ Unit cell; dan $39,67 \pm 4,04$ Unit cell dibandingkan kontrol tanpa perlakuan dengan jumlah $2599 \pm 404,39$ Unit cell. Kontrol positif (KP) lysorin menurunkan hingga $18,33 \pm 6,02$ Unit cell yang tidak berbeda signifikan terhadap EMC dosis 400.000 ppm. Presentase area biofilm diamati mengalami penurunan pada paparan EMC dengan konsentrasi 100.000, 200.000, dan 400.000 ppm berturut-turut sebesar $44,14 \pm 1,07\%$; $40,89 \pm 2,41\%$; dan $27,79 \pm 2,35\%$. Presentase area biofilm pada kontrol tanpa perlakuan adalah $45,95 \pm 2,99\%$. KP menurunkan area hingga $15,82 \pm 2,35\%$ yang berbeda signifikan terhadap EMC dan kontrol tanpa perlakuan ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Ekstrak etanol buah *Momordica charantia* mempunyai kemampuan dalam menurunkan jumlah mikrokoloni dan menurunkan presentase area biofilm matur *S.aureus* dengan konsentrasi optimum 400.000 ppm.

Kata Kunci: *Momordica charantia*; antibiofilm; biofilm; *Staphylococcus aureus*

*Korespondensi: Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., PhD

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144. E-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

ANTIBIOFILM ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT BITTER MELON FRUIT (*Momordica charantia*) AGAINST *Staphylococcus aureus*

Iftah Ghina Shafira, Noer Aini, Rio Risandiansyah*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus aureus* is one of the bacteria that can form biofilm by adhering to a surface, then multiplying and forming a biofilm layer. *Momordica charantia* is a plant that has the ability to inhibit bacterial growth, but its effectiveness as an antibiofilm is unknown. This study aims to determine the activity of *Momordica charantia* in inhibiting biofilm growth through an *in vitro* approach.

Method: *Momordica charantia* extraction (EMC) in this study used maceration method with 70% ethanol solvent. The extraction results were tested for antibiofilm activity using the direct microscopic observation method by measuring the number of microcolonies and the percentage of area in the biofilm. Statistical test using One-Way ANOVA and continued with Post Hoc test with significance value $p < 0.05$. This study used 3 biological repeats, with 10 fields of view for microscopic observations.

Result: EMC can decrease the number of microcolonies compared to untreated controls with the number of microcolonies at concentrations of 100,000, 200,000 and 400,000 ppm respectively by $1591 \pm 331,16$ cell cluster; $561,33 \pm 41,04$ cell cluster; and $39,67 \pm 4,04$ cell cluster compared to untreated controls with a total of $2599 \pm 404,39$ cell cluster. The positive control (KP) of lysorin lowered it to $18,33 \pm 6,02$ cell cluster which was not significantly different from the EMC dose of 400,000 ppm. The percentage of biofilm area was observed to decrease in EMC exposure with concentrations of 100,000, 200,000, and 400,000 ppm respectively by $44,14 \pm 1,07\%$; $40,89 \pm 2,41\%$; dan $27,79 \pm 2,35\%$. The percentage of biofilm area in the untreated control was $45,95 \pm 2,99\%$. KP lowered the area by $15,82 \pm 2,35\%$ which differed significantly from EMC and untreated control ($p < 0.05$).

Conclusion: *Momordica charantia* fruit ethanol extract has the ability to reduce the number of microcolonies and reduce the percentage of mature biofilm area of *S. aureus* with an optimum concentration of 400,000 ppm.

Keywords: *Momordica charantia*; antibiofilm; biofilm; *Staphylococcus aureus*

*Correspondence: Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., PhD

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144. E-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi nosokomial. Penyakit yang dapat disebabkan oleh infeksi nosokomial antara lain infeksi saluran kemih, infeksi luka operasi, dan bakteremia.¹ Salah satu penyebab infeksi nosokomial adalah infeksi akibat penggunaan peralatan medis yang terkontaminasi oleh bakteri.² Bakteri yang menempel pada permukaan alat medis seiring waktu dapat menghasilkan zat polimer ekstraseluler sehingga membentuk biofilm.³

Biofilm adalah kumpulan sel mikroorganisme yang menempel pada suatu permukaan dan dilindungi oleh matriks ekstraseluler yang dibuat oleh bakteri.⁴ Menurut *National Institutes of Health* (NIH), biofilm berkontribusi lebih dari 80% terhadap penyakit akibat mikroba.⁵ Dampak merugikan dari pertumbuhan biofilm meliputi kontaminasi produk dan cairan, degradasi permukaan, dan peningkatan resistensi biosida.⁶

Pembentukan biofilm dapat dicegah dengan cara menghambat penempelan bakteri ke permukaan abiotik melalui agen molekul antibiofilm yang bekerja dengan cara membentuk lapisan permukaan antibakteri dan permukaan antiadhesi.⁷ Agen antibiofilm bisa didapatkan dari produk alam diantaranya yaitu fitokimia, biosurfaktan, dan peptida antimikroba.⁸ Maka dari itu diperlukan senyawa antibiofilm dengan memanfaatkan bahan alam dari tanaman herbal yang mempunyai potensi sebagai antibiofilm.^{9,10}

Buah pare (*Momordica charantia*) merupakan bahan alam yang berkhasiat untuk mengobati penyakit infeksi.¹¹ *Momordica charantia* mempunyai senyawa antibakteri seperti *alkaloid*, *flavonoid*, *triterpenoid*, *steroid*, dan *saponin* berdasarkan uji fitokimia.¹² Pada penelitian sebelumnya diketahui fraksi air buah *Momordica charantia* dengan menggunakan konsentrasi 200.000 ppm mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*, namun kemampuannya dalam menghambat biofilm masih belum diketahui.¹³ Sementara penelitian yang sudah dilakukan oleh Moniruzzaman (2022) didapatkan bahwa ekstrak metanol biji *Momordica charantia* menunjukkan adanya efektivitas dalam penghambatan pembentukan biofilm *S.aureus*. Berdasarkan hal tersebut dapat diduga bahwa buah *Momordica charantia* memiliki efektivitas dalam menghambat pembentukan atau

menghancurkan biofilm, sehingga diperlukan penelitian mengenai potensi ekstrak buah *Momordica charantia* dalam penghambatan pembentukan atau menghancurkan biofilm.

METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain penelitian *in vitro* dengan menghambat terbentuknya biofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ekstrak etanol buah *Momordica charantia*. Simplisia *Momordica charantia* didapat UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu dengan nomor surat 067/ 640/ 102.20/ 2023. Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2023 - Mei 2023 di Laboratorium Biomedik FK UMM dan LPRK FK UNISMA.

Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*)

Metode maserasi digunakan untuk mengekstrak 100 g serbuk simplisia buah *Momordica charantia* dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Serbuk simplisia direndam dengan pelarut etanol 70% perbandingan 1:3 b/v selama 24 jam. Dilakukan penyaringan dan hasil dari penyaringan direndam kembali selama 24 jam dengan tiga kali pengulangan. Hasil dari penyaringan dievaporasi dengan alat *rotary vacuum evaporator* dalam suhu 60 °C hingga berbentuk pasta.

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*)

Uji Flavonoid

Dalam tabung reaksi, 4 ml ekstrak etanol buah *Momordica charantia* dicampur dengan 1 ml larutan amonia encer dan dikocok. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna kuning.

Uji Fenolik

Ekstrak *Momordica charantia* dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diikuti dengan 1-2 tetes larutan FeCl₃. Terciptanya warna biru atau biru keunguan menunjukkan tanda positif.

Uji Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak *Momordica charantia* kocok kuat-kuat di dalam tabung reaksi. Hasil positif ditandai dengan terbentuk busa yang bertahan selama 15 menit.

Uji Alkaloid

Ekstrak etanol buah *Momordica charantia* dibagi ke dalam dua tabung reaksi dan dicampur dengan 1 mL HCl 2N. Pereaksi Mayer

ditambahkan ke tabung I, dan hasil positif diperoleh jika larutan menghasilkan endapan putih. Pada tabung II ditambahkan 2-3 tetes pereaksi dragendroff, dan hasil positif diperoleh jika larutan menghasilkan endapan berwarna jingga.

Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak etanol buah *Momordica charantia* dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diikuti dengan 2-3 tetes asetat anhidrida dan 1 tetes asam sulfat pekat. Triterpenoid diidentifikasi dengan adanya cincin kecoklatan atau ungu pada batas dua pelarut, sedangkan steroid diidentifikasi dengan adanya warna hijau kebiruan kehitaman.

Uji Pembentukan Biofilm

Pada uji biofilm pertama dilakukan standarisasi bakteri dengan mencampurkan bakteri ke dalam 10 ml *normal saline* menggunakan ose. Kemudian kekeruhan suspensi tersebut disesuaikan dengan standar 0,5 *McFarland* ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). *Object glass* steril disimpan dalam cawan petri dan diisi media *Brain-Heart Infusion Broth* (BHIB) yang sudah ditambah dengan sukrosa 2% sebanyak ± 10 mL. Tambahkan bakteri yang sudah distandarkan dengan *Mc Farland* sebanyak 1 mL ke dalam media lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Uji Antibiofilm

Setelah biofilm terbentuk, media dibuang dan *object glass* dibilas dengan *normal saline* sebanyak 2 kali dan digenangi dengan *crystal violet* 0,1% selama 1 menit. *Object glass* dibilas dengan *normal saline* sampai warna *crystal violet* hilang. *Object glass* diberikan *lactophenol cotton blue* (LPCB) selama 1 menit untuk mengikat polisakarida yang menempel pada *object glass*. Berikan perlakuan sesuai dengan kelompok kontrol dan didiamkan selama 5 menit. Setelah itu dibilas dengan *normal saline* sebanyak 2 kali dan digenangi *lactophenol cotton blue* (LPCB) selama 1 menit. *Object glass* dikeringkan menggunakan udara didalam *laminar air flow* (LAF) dan diperiksa dibawah mikroskop trinokuler pada perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi. *Object glass* difoto dengan mikroskop trinokuler sebanyak 10 lapang pandang dan dianalisa menggunakan aplikasi *ImageJ*.

Analisa Data dan Statistik

Data analisa menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences*

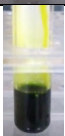
(SPSS) dengan uji homogenitas dan uji normalitas. Setelah data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji *oneway ANOVA*. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan.

HASIL PENELITIAN

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) didapatkan senyawa aktif alkaloid, fenolik, saponin, terpenoid. Hasil dapat dilihat pada Tabel 1.

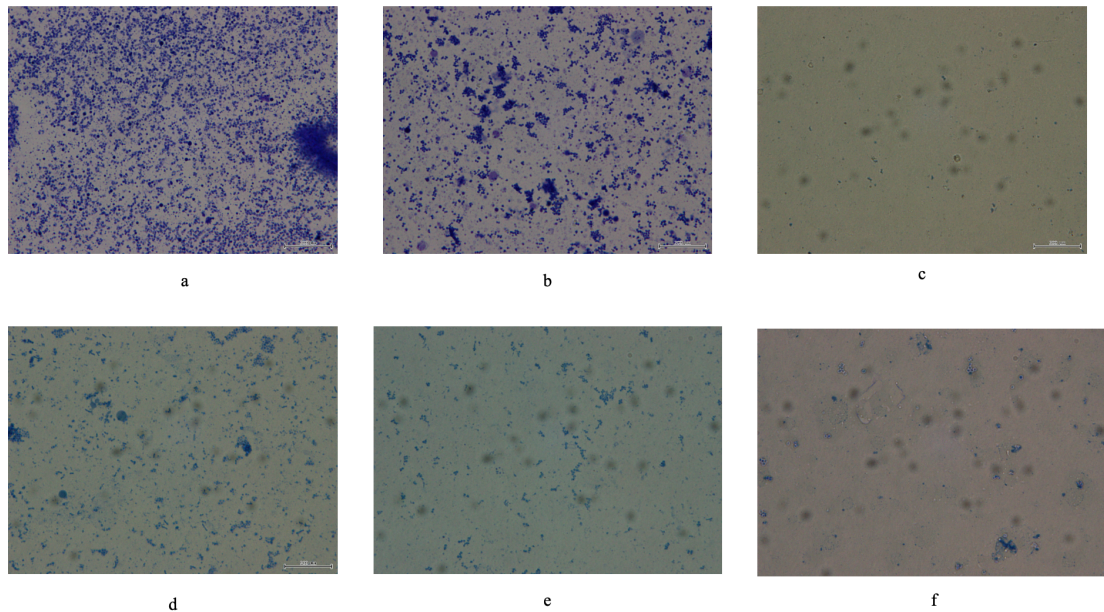
Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol *Momordica charantia*

Golongan senyawa	Perubahan warna	Gambar	Kesimpulan
Alkaloid	Endapan coklat kemerahan		+
Flavonoid	Warna kekuningan		+
Fenolik	Warna biru atau keunguan		+
Saponin	Terbentuk busa permanen (15 menit)		+
Terpenoid	Warna merah atau keunguan		+

keterangan: + menandakan adanya senyawa aktif, - menandakan tidak adanya senyawa aktif

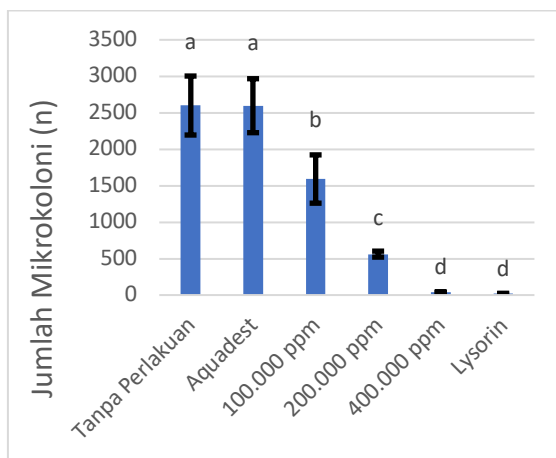
Uji Antibiofilm Berdasarkan Jumlah Mikrokoloni

Hasil perhitungan jumlah mikrokoloni bakteri *S.aureus* pada uji antibiofilm ekstrak etanol *Momordica charantia* dapat dilihat pada **Gambar 1 dan 2**. Ekstrak etanol *Momordica charantia* konsentrasi 100.000 ppm dapat menurunkan jumlah mikrokoloni sebesar 39%, konsentrasi 200.000 ppm dapat menurunkan jumlah mikrokoloni sebesar 79%, dan konsentrasi 400.000 ppm dapat menurunkan jumlah mikrokoloni sebesar 98,5%. Sedangkan lysorin dapat menurunkan jumlah mikrokoloni sebesar 99,3% yang tidak berbeda signifikan terhadap konsentrasi 400.000 ppm ekstrak *Momordica charantia* ($p > 0,05$).



Gambar 1. Hasil Uji Antibiofilm Ekstrak Etanol *Momordica charantia* Berdasarkan Jumlah Mikrokoloni

Keterangan : Hasil jumlah mikrokoloni (a): Tanpa perlakuan $2599 \pm 404,39$ Unit cell; (b): Aquadest $2596,67 \pm 370,04$ Unit cell; (c): Lysorin $18,33 \pm 6,02$ Unit cell; Ekstrak *Momordica charantia* dapat menurunkan jumlah mikrokoloni (d): Ekstrak *Momordica charantia* 100.000 ppm $1591 \pm 331,16$ Unit cell; (e): Ekstrak *Momordica charantia* 200.000 ppm $561,33 \pm 41,04$ Unit cell; (f): Ekstrak *Momordica charantia* 400.000 ppm $39,67 \pm 4,04$ Unit cell. Kontrol positif lysorin tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 400.000 ppm.

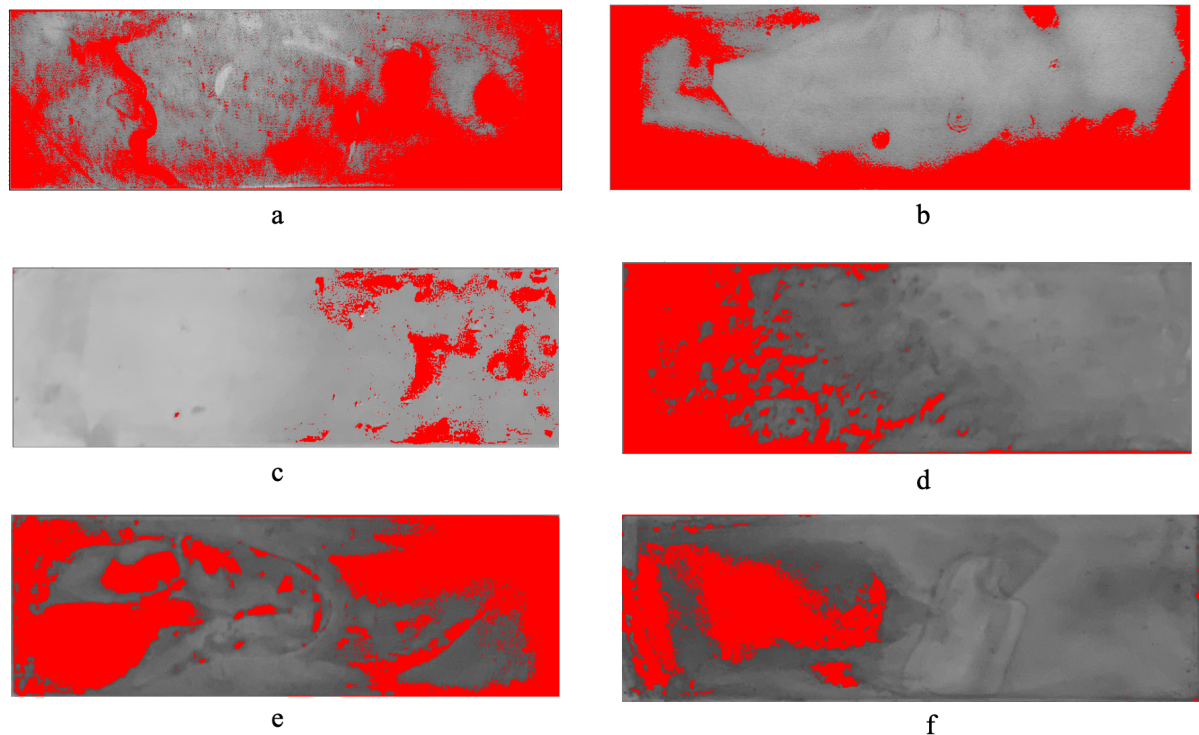


Gambar 2. Histogram Perhitungan Jumlah Mikrokoloni Antibiofilm Ekstrak Etanol *Momordica charantia*

Keterangan: Notasi berbeda menunjukkan perbedaan signifikan.

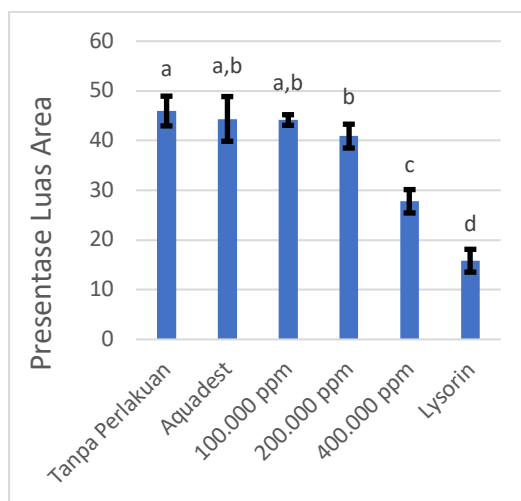
Uji Antibiofilm Berdasarkan Presentase luas area

Hasil pengukuran presentase luas area uji antibiofilm ekstrak etanol 70% buah pare dapat dilihat pada **Gambar 3 dan 4**. Presentase luas area antibiofilm ekstrak etanol *Momordica charantia* pada konsentrasi 100.000 ppm dapat menurunkan luas area sebesar 3,9%, konsentrasi 200.000 ppm dapat menurunkan luas area sebesar 11%, dan konsentrasi 400.000 ppm dapat menurunkan luas area sebesar 39,5%. Sedangkan lysorin sebagai kontrol positif dapat menurunkan luas area sebesar 65,6% yang berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan EMC konsentrasi 100.000, 200.000, dan 400.000 ppm.



Gambar 3. Hasil Pengukuran Presentase Luas Area Antibiofilm Ekstrak Etanol *Momordica charantia*

Keterangan: Hasil pengukuran presentase luas area menggunakan *ImageJ* (a): Tanpa perlakuan $45,95 \pm 2,99\%$; (b): Aquadest $44,36 \pm 4,53\%$; (c): Lysorin $15,82 \pm 2,35\%$; (d): Ekstrak *Momordica charantia* 100.000 ppm $44,14 \pm 1,07\%$; (e): Ekstrak *Momordica charantia* 200.000 ppm $40,89 \pm 2,41\%$; (f): Ekstrak *Momordica charantia* 400.000 ppm $27,79 \pm 2,35\%$.



Gambar 4. Histogram Pengukuran Presentase Luas Area Antibiofilm Ekstrak Etanol *Momordica charantia*

Keterangan: Notasi berbeda menunjukkan perbedaan signifikan.

PEMBAHASAN

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*)

Ekstrak etanol buah *Momordica charantia* mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, fenolik, saponin, dan terpenoid.

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan metode maserasi. Keuntungan dari metode ini adalah sederhana dan tidak melibatkan pemanasan, sehingga bahan alami tidak mungkin rusak atau terdegradasi. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%, karena pelarut etanol merupakan pelarut mampu menarik senyawa yang bersifat polar hingga non polar, sehingga pelarut ini digunakan untuk menarik semua komponen kimia dalam buah pare *Momordica charantia*.¹⁴

Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (I Ketut Angga Yuda *et al.*, 2013) yakni ekstrak etanol 70% buah pare mengandung metabolit sekunder seperti *flavonoid*, *saponin*, dan *fenolik*. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Cahyaningsih (2021) ekstrak etanol 96% *Momordica charantia* mengandung senyawa *alkaloid*. Penelitian yang dilakukan oleh Hasan (2018) ekstrak *Momordica charantia* menggunakan pelarut etanol 70% ditemukan adanya kandungan senyawa *terpenoid*. Pada beberapa penelitian tersebut menggunakan metode ekstraksi maserasi dalam menarik senyawa yang terkandung dalam buah pare. Hal ini kemungkinan terjadi karena perbedaan letak

geografis yang dapat menghasilkan perbedaan dalam unsur nutrisi, intensitas sinar matahari, dan kandungan air. Sehingga dapat mengubah susunan metabolit sekunder dalam tanaman.¹⁵

Uji Antibiofilm Ekstrak Etanol *Momordica charantia* pada Perhitungan Jumlah Mikrokoloni Bakteri *S. aureus*

Uji antibiofilm pada metode perhitungan jumlah mikrokoloni *S. aureus* menunjukkan bahwa ekstrak *Momordica charantia* (EMC) konsentrasi 100.000, 200.000, dan 400.000 ppm memiliki kemampuan dalam menghambat pembentukan mikrokoloni. Hal tersebut dilihat dengan adanya penurunan jumlah mikrokoloni *S. aureus* yang diamati pada *software ImageJ* yang berbeda signifikan dengan kontrol negatif tanpa perlakuan ($p < 0,05$). Sehingga dapat dikatakan yakni EMC memiliki zat aktif yang berpotensi sebagai antibiofilm. Pada hasil uji perhitungan jumlah mikrokoloni *S. aureus* terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi EMC 100.000, 200.000 dan 400.000 ppm ($p < 0,05$). Konsentrasi yang mempunyai kemampuan paling kuat dalam menurunkan jumlah mikrokoloni biofilm *S. aureus* yaitu konsentrasi 400.000 ppm.

EMC konsentrasi 400.000 ppm mempunyai kemampuan menurunkan jumlah mikrokoloni *S. aureus* yang tidak berbeda dibandingkan dengan lysorin sebagai kontrol pembanding. Hal ini menunjukkan yakni EMC 400.000 ppm berpotensi untuk menghambat pembentukan biofilm, dikarenakan semakin meningkat konsentrasi sampel uji, semakin tinggi aktivitasnya sesuai dengan dengan teori *concentration dependent* semakin tinggi dosis maka semakin kuat daya kerjanya.¹⁶ EMC konsentrasi 400.000 ppm mempunyai kemampuan menurunkan jumlah mikrokoloni *S. aureus* yang setara dengan lysorin sebagai kontrol pembanding. Hal tersebut dikarenakan lysorin mempunyai kemampuan sebagai disinfektan yang memiliki kandungan *surfactant*. Molekul *surfactant* bekerja dengan mengurangi tegangan permukaan air, yang berarti meningkatkan kemampuan air untuk menembus, menyebarkan, dan menghilangkan bahan organik dari permukaan. Proses disinfeksi menargetkan beberapa lokasi dan menyebabkan kerusakan struktural dan fungsional pada berbagai makromolekul (misalnya, protein, lipid, asam nukleat) mikroorganisme. Hal ini mengakibatkan terganggunya dinding atau membran sel, atau proses replikasi dan menghancurkan atau menonaktifkan sebagian

besar mikroorganisme patogen secara permanen.¹⁷

Berdasarkan hasil uji fitokimia, EMC memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti *alkaloid*, *flavonoid*, *fenolik*, *saponin*, dan *terpenoid*. Hal tersebut menunjukkan yakni kemungkinan EMC memiliki potensi dalam menghambat pembentukan biofilm yang dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder. *Alkaloid* bekerja sebagai antibiofilm dengan cara menghambat *quorum sensing*, dan menekan faktor regulasi pembentuk biofilm.¹⁸ *Quorum sensing* merupakan metode komunikasi antar sel ke sel bakteri yang menggunakan molekul sinyal yang sangat kecil dan mudah disebarkan untuk memulai atau mengatur perubahan ekspresi gen sebagai respons terhadap peningkatan kepadatan populasi. Komunikasi bakteri tidak hanya terbatas pada komunikasi antar spesies, komunikasi ini juga dapat digunakan untuk mengumpulkan dan menyebarkan pesan dari atau ke spesies lain untuk mengubah atau mengubah perilaku, baik untuk kepentingan kelompok maupun untuk keuntungan suatu spesies terhadap spesies yang lain.¹⁹ Efek senyawa *flavonoid* terhadap biofilm *S. aureus* adalah dengan mengganggu proses penempelan BAP (*biofilm-associated protein*) dan polimerisasi BAP.¹⁸ Efek *fenol* yaitu mengganggu metabolisme sel bakteri.²⁰ *Saponin* bekerja sebagai antibiofilm dengan cara meningkatkan permeabilitas membran bakteri sehingga mencegah perlekatan bakteri dari mekanisme tersebut menyebabkan tidak terbentuknya biofilm.²¹ *Terpenoid* dapat menghambat sintesis EPS karena gangguan pada ekspresi selulosa.²² Pada penelitian ini belum diketahui senyawa aktif mana yang berperan sebagai antibiofilm. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi setiap senyawa aktif yang terlibat sebagai antibiofilm.

Uji Antibiofilm Ekstrak Etanol *Momordica charantia* Pada Pengukuran Presentase Luas Area Bakteri *S. aureus*

Hasil uji antibiofilm pada metode pengukuran presentase luas area *S. aureus* menunjukkan bahwa EMC pada konsentrasi 100.000, 200.000, dan 400.000 ppm memiliki kemampuan dalam menghambat pembentukan biofilm. Hal tersebut dilihat dengan adanya penurunan presentase luas area biofilm *S. aureus*. Pada konsentrasi 100.000 ppm kemampuan ekstrak *Momordica charantia* dalam menurunkan presentase area tidak berbeda signifikan dengan kontrol tanpa

perlakuan dan *aquadest*. Sedangkan pada konsentrasi 200.000 ppm memiliki kemampuan yang berbeda signifikan dengan kontrol tanpa perlakuan tetapi tidak berbeda signifikan dengan *aquadest*. Hal ini diduga karena adanya faktor eksternal dimana pada preparat dengan pewarnaan *crystal violet* dapat mewarnai bakteri, sedangkan pada preparat dengan pewarnaan *lactophenol cotton blue* dapat mewarnai glukosa yang kemungkinan didapatkan dari ekstrak *Momordica charantia* sehingga software *ImageJ* tidak bisa membedakan antara bakteri dan ekstrak *Momordica charantia* maka dari itu, software *ImageJ* menganalisa ekstrak yang telah diberi perwarnaan *lactophenol cotton blue* adalah biofilm. Konsentrasi 400.000 ppm berbeda signifikan dengan kontrol tanpa perlakuan dan *aquadest*. Dengan demikian menunjukkan bahwa EMC mengandung senyawa aktif yang mencegah perkembangan biofilm *S. aureus*.

EMC memiliki kemampuan paling tinggi dalam menghambat presentase luas area biofilm *S. aureus* pada konsentrasi 400.000 ppm sesuai dengan penjelasan sebelumnya bahwa semakin besar konsentrasi komponen kimia dalam ekstrak (konsentrasi tinggi pada batas tertentu), semakin besar pula aksi antibiofilmnya.¹⁸ Hal ini dikarenakan EMC memiliki kandungan metabolit sekunder seperti *alkaloid*, *flavonoid*, *fenolik*, *saponin*, dan *terpenoid* dimana senyawa tersebut dapat menghambat terbentuknya biofilm seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya. Lysorin mempunyai kemampuan sebagai disinfektan dimana dapat menghambat atau menghancurkan pertumbuhan mikroorganisme sehingga lysorin jauh lebih baik dalam mengurangi pembentukan biofilm.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisa data dan pembahasan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) konsentrasi 400.000 ppm mempunyai kemampuan dalam menurunkan jumlah mikrokoloni dan presentase area biofilm *S. aureus*.

SARAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan untuk:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji kadar senyawa metabolit sekunder dalam buah pare (*Momordica charantia*) menggunakan metode uji fitokimia kuantitatif.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai aktivitas dari fraksi etanol buah pare (*Momordica charantia*) dalam menghancurkan biofilm *S. aureus*.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai senyawa apa saja yang dapat menghambat proses pembentukan biofilm *S. aureus*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih saya sampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa FK UNISMA yang telah menginsentif penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Linjani, D., Andriani, F., & Endriani, R. (2009). Identifikasi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada Hidung dan Tangan Perawat Ruang Perawatan Bedah Cendrawasih I RSUD Arifin Achmad Pekanbaru.
2. Febyayuningrum, I. C., Rosyidah, R. A., Aini, R., Kesehatan, P., Setya, B., & Yogyakarta, I. (2021). Kontaminasi Bakteri Alat Stetoskop Dengan Media Bap dan Mca di Ruang Penyadapan Darah UDD PMI Kabupaten Sleman DIY. 1(3). <https://journal.amikveteran.ac.id/index.php/>
3. Roberts, C. G. (2013). The Role of Biofilms in Reprocessing Medical Devices. *American Journal of Infection Control*, 41(5 SUPPL.). <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2012.12.008>
4. López, D., Vlamakis, H., & Kolter, R. (2010). Biofilms. In *Cold Spring Harbor perspectives in biology* (Vol. 2, Issue 7). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000398>
5. Asyari, A., Mayang Sari, A., Dini, E., Fitri, F., Indrama, E., & Bachtiar, H. (2019). Prevalensi biofilm bakteri aerob pada usapan tonsil dengan metode tube pada penderita tonsilitis kronis (Vol. 49, Issue 1).
6. Manivannan, G., 2008, Disinfection and Decontamination: Principles, Applications and Related Issues, Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton.
7. Bhattacharya, M., Wozniak, D. J., Stoodley, P., & Hall-Stoodley, L. (2015). Prevention And Treatment Of *Staphylococcus aureus* Biofilms. In *Expert Review of Anti-Infective Therapy* (Vol. 13, Issue 12, pp. 1499–1516). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1100533>
8. Mishra, R., Panda, A. K., De Mandal, S., Shakeel, M., Bisht, S. S., & Khan, J. (2020).

- Natural Anti-biofilm Agents: Strategies to Control Biofilm-Forming Pathogens. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.56632>
9. Richter, K., Van den Driessche, F., & Coenye, T. (2017). Innovative Approaches To Treat *Staphylococcus aureus* Biofilm-related Infections. In *Essays in Biochemistry* (Vol. 61, Issue 1, pp. 61–70). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/EBC20160056>
 10. Sri Maharani Utami, P., & Rahayu, M. (2020). Efek Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dalam Menghambat Pembentukan Biofilm *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. In *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* (Vol. 6, Issue 3).
 11. Grover, J. K., & Yadav, S. P. (2004). Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1), 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.035>
 12. Michaelle, C., Cheikna, Z., Durand, D.-N., Mihaela, C., Pacôme, N., Ioana, O. G., Bianca, F., Aly, S., Rodica, M. D., Lamine, B.-M., & Farid, B.-M. (2020). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Momordica charantia* L. and *Morinda lucida* Benth extracts from Benin. *African Journal of Microbiology Research*, 14(8), 426–435. <https://doi.org/10.5897/ajmr2020.9347>
 13. Bramastasia, N. K., Martino, Y. A., Risandiansyah, R. (2022). Perbandingan Ekstrak Kasar dengan Fraksi Ekstrak Metanol Buah *Momordica charantia* Linn sebagai Antibakteri. *Universitas Islam Malang*.
 14. Susanty, L., & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.)
 15. Hadi, I., Nurfazera, A., & Rohmatika, N. (2022). Perbandingan Kandungan Fitokimia Fraksi Etil Asetatdaun Kemangi (*Ocimum basilicum* Folium) Dengan Perbedaan Ketinggian Geografis Tumbuh. In *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi* (Vol. 2022).
 16. Katzung, B.G. (2018) *Basic & Clinical Pharmacology*. 14th edn. Edited by B. G. Katzung. United States of America: McGraw-Hill Education.
 17. Dvorak, G. (2008). *Disinfection 101*.
 18. Rosyada, A. G., Prihastuti, C. C., Sari, D. N. I., Setiawati, S., 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. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 35(1), 34. <https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.42451>
 19. Atkinson, S., & Williams, P. (2009). Quorum sensing and social networking in the microbial world. In *Journal of the Royal Society Interface* (Vol. 6, Issue 40, pp. 959–978). Royal Society. <https://doi.org/10.1098/rsif.2009.0203>
 20. Slobodníková, L., Fialová, S., Rendeková, K., Kováč, J., & Mučaji, P. (2016). Antibiofilm activity of plant polyphenols. In *Molecules* (Vol. 21, Issue 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules21121717>
 21. Tatli Cankaya, I. I., & Somuncuoglu, E. I. (2021). Potential and Prophylactic Use of Plants Containing Saponin-Type Compounds as Antibiofilm Agents against Respiratory Tract Infections. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2021). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2021/6814215>
 22. Palomares-Navarro, J. J., Bernal-Mercado, A. T., González-Aguilar, G. A., Ortega-Ramirez, L. A., Martínez-Téllez, M. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2023). Antibiofilm Action of Plant Terpenes in *Salmonella* Strains: Potential Inhibitors of the Synthesis of Extracellular Polymeric Substances. In *Pathogens* (Vol. 12, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010035>