

## **Peranan Biofilm dalam Kaitannya dengan Penyakit Infeksi**

**Wani Devita Gunardi\***

\* Staf Pengajar Bagian Mikrobiologi FK UKRIDA

Alamat Korespondensi : Jl Terusan Arjuna No. 6 Jakarta Barat 11510

### **Abstrak**

**Biofilm** merupakan kumpulan dari sel-sel mikrobial yang melekat secara ireversibel pada suatu permukaan dan terbungkus dalam matriks *Extracellular Polymeric Substances (EPS)* yang dihasilkannya sendiri serta memperlihatkan adanya perubahan fenotip seperti perubahan tingkat pertumbuhan dan perubahan transkripsi gen dari sel planktonik atau sel bebasnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi perlekatan sel-sel bakteri dalam pembentukan biofilm adalah efek substratum (permukaan tempat melekatnya), *conditioning film*, hidrodinamik dari aliran yang melewatinya, karakteristik media cairan, dan keadaan permukaan sel bakteri yang akan melekat. Biofilm mempunyai peranan dalam infeksi penyakit. Namun proses yang sebenarnya bagaimana biofilm dapat menimbulkan penyakit dalam tubuh manusia belum sepenuhnya dimengerti. Beberapa mekanisme yang mungkin dapat menerangkan kaitan pembentukan biofilm dengan penyakit infeksi adalah lepasnya sel-sel biofilm atau agregasi sel, produksi endotoksin, resistensi terhadap sistem imun hospes, menjadi tempat untuk penyebaran organisme yang resisten, dan resistensi terhadap antibiotika.

**Kata kunci** : biofilm, substrat ekstra polimer, *quorum sensing*

### **Abstract**

*A biofilm is a microbially derived sessile community characterized by cells that are irreversibly attached to a substratum or interface or to each other are embedded in a matrix of extracellular polymeric substances that they are produced and exhibit an altered phenotype with respect to growth rate and gene transcription. Factors that involved bacteria attached in biofilm producing are substratum effect (the surfaces), conditioning film, hydrodynamic, fluid characteristics and the surface of bacteria cell. There was a association between the presence of the organism on biofilm and the disease. But how the real process that biofilm could make a disease not really understood for some of the diseases. Some mechanism that can explain the association between biofilm and the diases are releasing of biofilm cells or cell agregation, endotoxin productions, protection from immune system, tranmission of resistance microorganisms, and resistance of antibiotic.*

**Key words** : biofilm, extra polymer substrat, *quorum sensing*

## Pendahuluan

**Biofilm** merupakan kumpulan dari sel-sel mikrobial yang melekat secara ireversibel pada suatu permukaan dan terbungkus dalam matriks *Extracellular Polymeric Substances (EPS)* yang dihasilkannya sendiri serta memperlihatkan adanya perubahan fenotip seperti perubahan tingkat pertumbuhan dan perubahan transkripsi gen dari sel planktonik atau sel bebasnya.<sup>1</sup>

Definisi ini sangat penting karena dapat menerangkan beberapa hal seperti pada beberapa populasi bakteri yang memenuhi kriteria awal yaitu melekat pada permukaan dan membentuk matriks tidak selalu mempunyai sifat fenotip dari biofilm, sehingga tidak dapat dikatakan sebagai biofilm yang sesungguhnya. Sifat fenotip dari biofilm ini telah mengalami perubahan fenotip dari sel planktoniknya seperti adanya karakteristik resistensi.

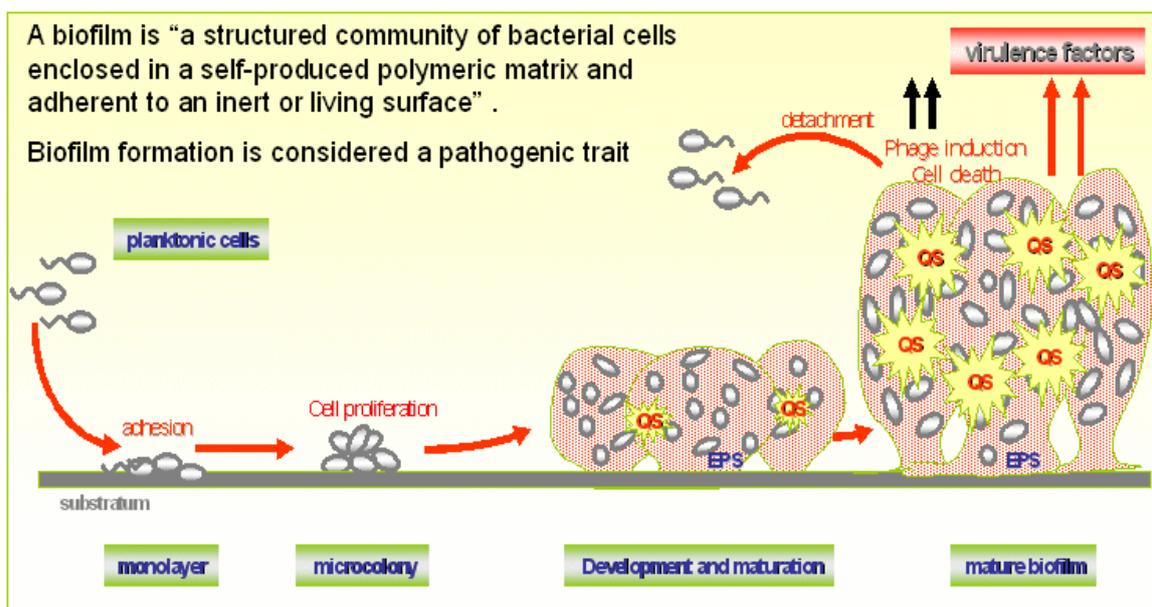
### Mekanisme Pembentukan Biofilm

Pembentukan biofilm dimulai dari beberapa bakteri yang hidup bebas (sel planktonik) melekat pada suatu permukaan, kemudian memperbanyak diri dan membentuk satu lapisan tipis (monolayer) biofilm. Pada saat ini, pembelahan akan berhenti selama beberapa jam dan pada masa ini terjadi banyak sekali perubahan pada sel planktonik, yang akan menghasilkan transisi sel planktonik menjadi sel

dengan fenotip biofilm. Sel biofilm berbeda secara metabolik dan fisiologik dari sel planktoniknya.

Sejalan dengan pertumbuhannya, sel biofilm ini akan menghasilkan EPS yang akan melekatkan mereka pada suatu permukaan dan melekatkan satu sama lain untuk membentuk suatu mikrokoloni. *Monolayer* ini dikenal juga sebagai *linking film* yaitu suatu substrat yang menjadi tempat sel bakteri melekat dan membentuk mikrokoloni. Jika sel-sel terus melanjutkan pertumbuhannya dan membentuk lapisan yang makin menebal, maka mikroba yang melekat pada lapisan terdalam permukaan akan kekurangan zat-zat nutrisi dan terjadi akumulasi produk buangan yang bersifat toksik. Untuk mengatasi masalah ini, mikrokoloni akan berkembang menjadi bentuk jamur yang mempunyai saluran atau pori-pori yang dapat dilewati oleh nutrisi dan produk metabolit dari semua sel.

Dalam perkembangannya, sel-sel bakteri dalam matriks akan mengeluarkan sinyal kimia. Molekul sinyal ini berperan dalam pembentukan karakteristik biofilm menjadi lebih matang dan dalam koordinasi aktivitas biofilm. Aksi dari sinyal ini merupakan suatu proses dari *quorum sensing* yaitu komunikasi antar sel dan kemampuan molekul untuk mencetuskan suatu aksi bergantung pada konsentrasi sinyal dalam lingkungan.



Gambar 1. Proses Pembentukan Biofilm

Biofilm yang matang telah terbentuk dan sekarang terdiri dari banyak spesies bakteri. Biofilm ini juga mungkin berisi jamur, alga, protozoa, jaringan debris dan produk korosi dari pipa saluran. Ketika bakteri hidup saling berdampingan, terkadang satu spesies membutuhkan metabolit spesies lainnya dan mereka saling membutuhkan. Biofilm ini merupakan suatu struktur yang dinamik dengan sel-sel yang terus silih berganti masuk dan meninggalkan komunitasnya. Dalam proses ini sel-sel *signaling* juga mengambil peranan yang penting.

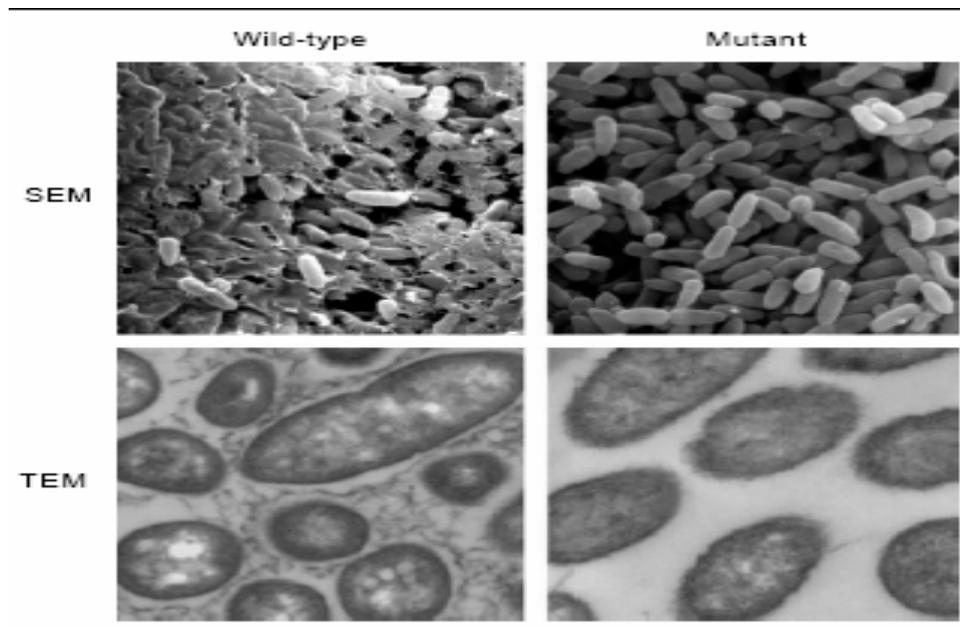
Pembentukan dari biofilm ini tergantung dari konsentrasi nutrisi yang tersedia dan diatur oleh suatu zat kimia kompleks yang dikeluarkan oleh sel sebagai komunikasi antar sel. Sebagai contoh, ketika hidup bebas, *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan molekul signal dalam kadar yang rendah. Tetapi ketika sel *Pseudomonas aeruginosa* membentuk biofilm maka konsentrasi molekul signal akan meningkat dan menimbulkan perubahan aktifitas dari gen-gen, salah satunya adalah gen yang mengatur

sintesis dari alginat untuk pembentukan matriks ekstraseluler.<sup>2</sup>

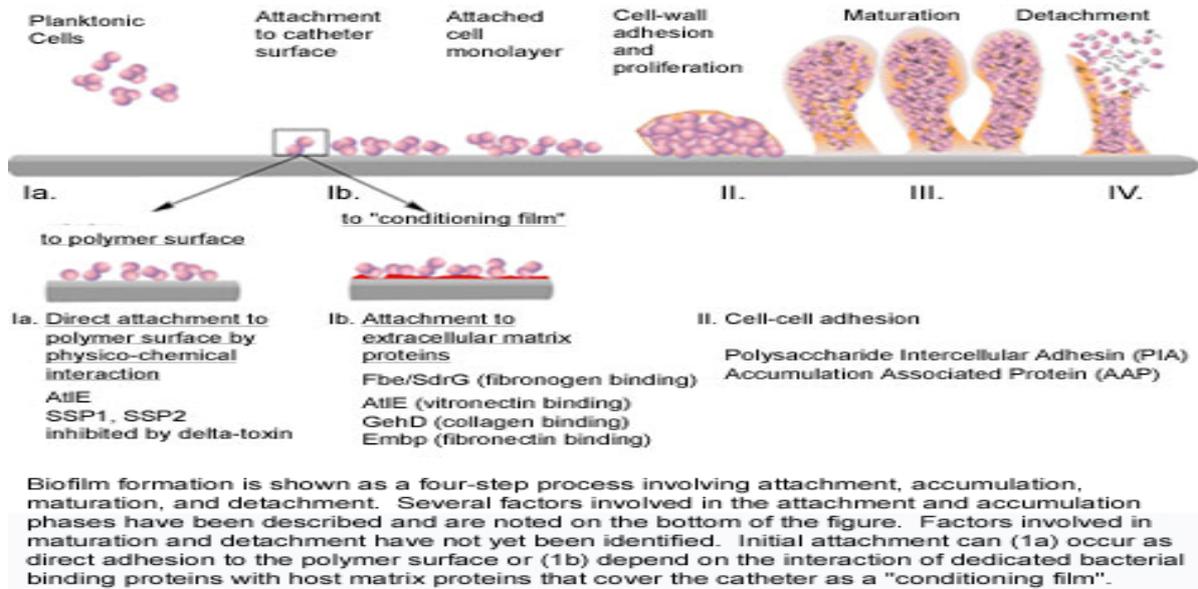
### Struktur Biofilm<sup>1,3</sup>

Unit struktural dari biofilm adalah mikrokoloni dan proses dasar pembentukan dari biofilm seperti mekanisme *quorum sensing*, resistensi antimikroba, dan perlekatan yang dapat menerangkan interaksi fisiologis dari mikrokoloni dalam biofilm yang telah matang.

Biofilm terutama terdiri dari materi matriks (85% dari volume) dan kumpulan sel-sel bakteri (15% dari volume). *Extracellular Polymerc Substances* (EPS) mungkin menyusun 50%-90% karbon organik biofilm dan dapat dianggap sebagai material matrik yang utama. EPS bervariasi secara fisik dan kimia, tapi terutama terdiri dari polisakarida. EPS bersifat hidrofilik karena dapat mengikat air dalam jumlah yang banyak, dengan tingkat kelarutan yang berbeda-beda.



Gambar 2. Matriks Ekstraseluler pada *P.aeruginosa* Dilihat dengan Mikroskop Elektron



Gambar 3. Proses Terjadinya Biofilm dan Faktor-Faktor Pendukungnya

### Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Perlekatan Sel-Sel Bakteri dalam Pembentukan Biofilm<sup>3</sup>

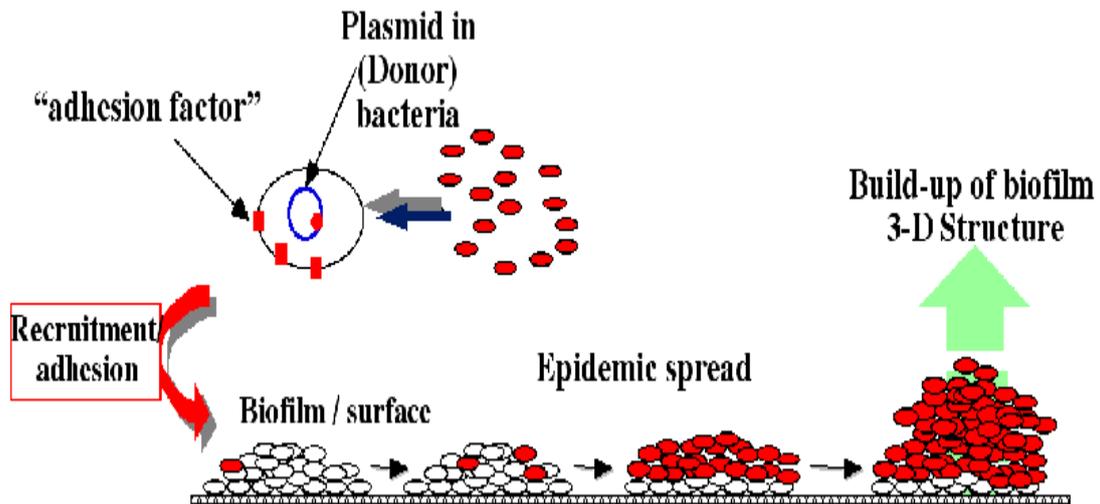
1. Efek substratum (Permukaan)  
Perlekatan terjadi lebih baik pada permukaan yang kasar, karena akan menurunkan kekuatan aliran yang dapat melepaskan biofilm, dan permukaan yang kasar mempunyai luas permukaan yang lebih besar. Hal lain adalah mikroorganisme lebih baik melekat pada permukaan yang hidrofobik seperti teflon dan plastik dibandingkan pada gelas atau logam.
2. *Conditioning film*.  
Permukaan yang terpapar oleh media cair akan segera ditutupi oleh polimer-polimer dari medium dan menimbulkan modifikasi kimiawi yang akan mempengaruhi pertumbuhan dan perluasan dari perlekatan mikroorganisme pada permukaan tersebut. Contohnya yang terjadi pada enamel gigi yang dilapisi oleh *proteinaceous film* yang disebut '*acquired pellicle*' dimana sel-sel bakteri akan melekat pada enamel dalam beberapa jam paparan.
3. Hidrodinamik  
Semakin cepat aliran cairan yang terjadi maka semakin mempercepat perlekatan

sel pada permukaan karena sel-sel akan bertubulensi dan berputar. Hal ini terbatas sampai kecepatan tidak melepaskan perlekatan sel-sel dari permukaan.

4. Karakteristik media cairan  
Seperti pH, suhu, jumlah zat gizi, kation dan adanya antimikroba akan mempengaruhi perlekatan.
5. Keadaan permukaan sel bakteri  
Permukaan sel yang hidrofobik, adanya fimbriae, flagel, dan polisakarida atau protein pada permukaan sel bakteri akan mempermudah perlekatan, terutama bila terjadi kompetisi dalam suatu kumpulan mikroorganisme.

### Transfer Gen

Biofilm ternyata merupakan tempat yang ideal bagi pertukaran DNA ekstrakromosomal (plasmid). Tingkat konyugasi dalam biofilm lebih tinggi dibanding pada sel-sel yang bebas. Konyugasi ini diperlukan dalam pembentukan biofilm, Pilus konyugatif F (dikode oleh operon tra pada plasmid) berperan sebagai faktor adesi pada permukaan dan antar sel, sehingga membentuk biofilm tiga dimensi pada *E. coli*. Karena plasmid juga dapat membawa gen yang mengatur resistensi terhadap antibiotika maka biofilm juga berperan dalam penyebaran resistensi bakteri terhadap antibiotika.



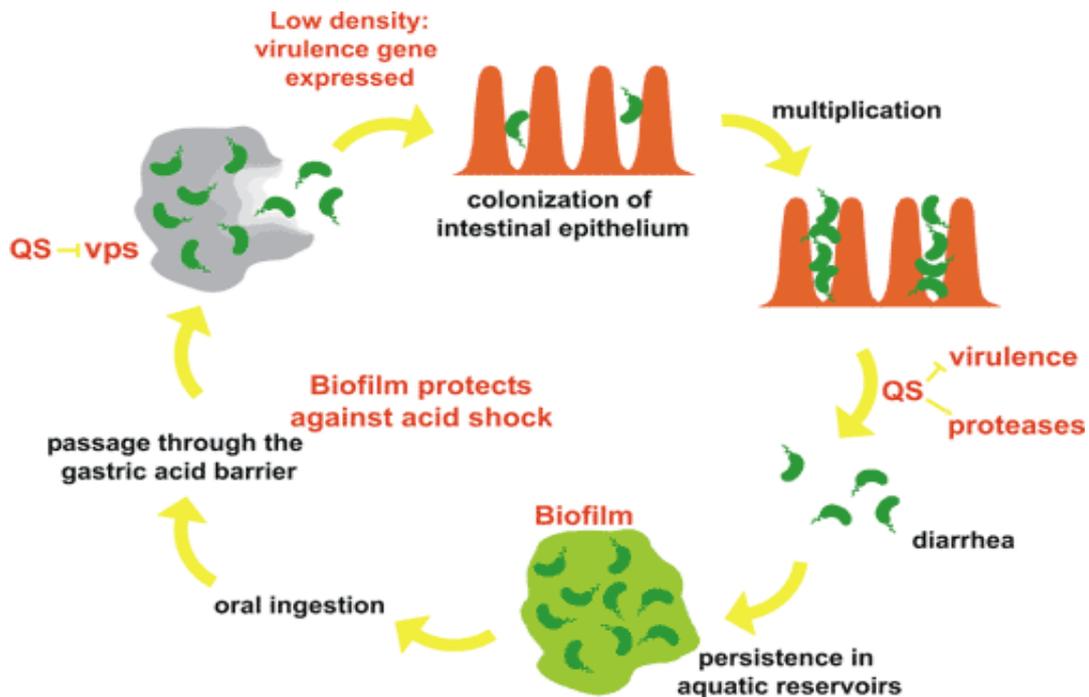
Gambar 4. Peranan Plasmid Pada Pembentukan Biofilm

### *Quorum Sensing*<sup>1,7</sup>

Sel-sel *signaling* juga memperlihatkan peranannya dalam pembentukan biofilm. Davies dkk. memperlihatkan sistem sel-sel *signaling* pada *Pseudomonas aeruginosa* yaitu *lasR-lasI* dan *rhIR-rhII*. Mutan yang tidak mampu membentuk sinyal ini, dapat juga membentuk biofilm tetapi lebih tipis dan tidak membuat bentuk jamur serta tidak mempunyai saluran-saluran sehingga lebih mudah untuk dilepaskan dengan menggunakan surfaktan. Penambahan homoserine lacton (sinyal autoinduser pada bakteri Gram negatif) pada medium yang mengandung biofilm mutan menghasilkan biofilm yang sama bentuk dan ketebalannya dengan biofilm yang bukan mutan.

Pada *Streptococcus gordonii*, bakteri Gram (+) pada rongga mulut diidentifikasi salah satu gen yang berperan dalam sel-sel *signaling* ComD, dimana mutannya tidak dapat membentuk biofilm.

Sel-sel *signaling* juga berperan dalam perlekatan dan lepasnya sel-sel dari biofilm. Xie dkk. memperlihatkan aktivitas gen yang mengkode ekspresi fimbriae (*fimA*) pada bakteri *dental plaque* yaitu *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri ini tidak melekat pada biofilm *Streptococcus cristalis* karena bakteri ini menghasilkan substansi yang mempengaruhi ekspresi *fimA* sehingga mencegah perlekatan *P. gingivalis*.

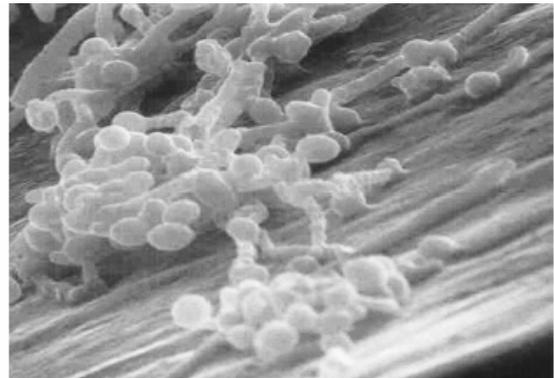


Gambar 5. Peranan *Quorum Sensing* Pada *Vibrio cholerae*

### Pemeriksaan Biofilm

Pemeriksaan biofilm :

- Mikroskop elektron dapat memeriksa biofilm pada alat-alat medik dan pada infeksi manusia. Pada awalnya, mikroskop elektron ini merupakan alat yang penting dalam mempelajari biofilm.
- *Concofocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) dengan fluorescen antisera dan fluoresen in situ hibridisasi, sehingga organisme yang spesifik dan untuk mengidentifikasi dalam komunitas campuran kuman.



Gambar 6. Biofilm *Candida InVitro* pada Kateter Vaskular Dilihat Dengan Mikroskop Elektron

### Hubungan antara Pembentukan Biofilm dengan Patogenesis Penyakit Infeksi

Telah terbukti secara epidemiologi bahwa biofilm mempunyai peranan dalam infeksi penyakit. Namun proses yang sebenarnya bagaimana biofilm dapat menimbulkan penyakit dalam tubuh manusia belum sepenuhnya dimengerti. Beberapa mekanisme yang mungkin dapat menerangkan kaitan pembentukan biofilm dengan penyakit infeksi adalah :

1. Lepasnya sel-sel biofilm atau agregasi sel

Sel-sel biofilm yang lepas dapat menimbulkan infeksi. Infeksi pada aliran darah dan traktus urinarius dapat berasal dari jumlah kuman yang sedikit. Lepasnya sel-sel biofilm ini dapat terjadi karena pengaruh pertumbuhan dan pembelahan di dalam sel, dan perubahan kecepatan dan arah aliran.

2. Produksi endotoksin

Bakteri Gram (-) dapat memproduksi endotoksin yang mungkin dapat mengurangi respon imun dalam tubuh pasien. Walaupun belum ada penelitian

tentang tingkat dan kinetik dari endotoksin yang dilepaskan dari biofilm, Vincent dkk. memperlihatkan adanya bakteri dalam *hemodialyzer tubing* berhubungan dengan endotoksin.

3. Resistensi terhadap sistem imun hospes Yasuda dkk. memperlihatkan sel-sel *E. coli* dalam biofilm kurang sensitif terhadap aktivitas penghancuran oleh sel PMN, dibanding sel planktoniknya. Meluleni dkk. menemukan bahwa *opsoning antibodi* pada pasien dengan *chronic cystic fibrosis* tidak efektif dalam memfasilitasi fagositosis dan eliminasi pertumbuhan sel. Ketahanan ini kemungkinan terjadi sebagai hasil dari peningkatan resistensi bakteri biofilm terhadap penghancuran lekosit PMN oleh karena PMN bekerja pada spesies yang oksigen aktif.
4. Menjadi tempat untuk penyebaran organisme yang resisten Seperti telah dijelaskan di atas, bahwa dalam biofilm lebih mudah terjadi konjugasi yang berperan dalam pemindahan sifat resisten dalam plasmid.
5. Resistensi terhadap antibiotika

### Infeksi Yang Berhubungan Dengan Biofilm

- *Native valve endocarditis*
- *Otitis media*
- *Chronic bacterial prostatitis*
- *Cystic fibrosis*
- *Periodontitis*

### Biofilm pada Alat-Alat Medik <sup>2</sup>

Kriteria tempat biofilm untuk dapat tumbuh sangat luas, sehingga lingkungan yang cocok bagi mikroorganisme untuk berkoloni membentuk biofilm menjadi tidak terbatas. Alat-alat medik yang dapat menjadi tempat yang baik untuk tumbuhnya biofilm adalah :

- *Prosthetic heart valve*
- *Central venous catheter*
- *Urinary catheter*
- *Contact lense*
- *Intrauterine device*
- *Dental unit water line*

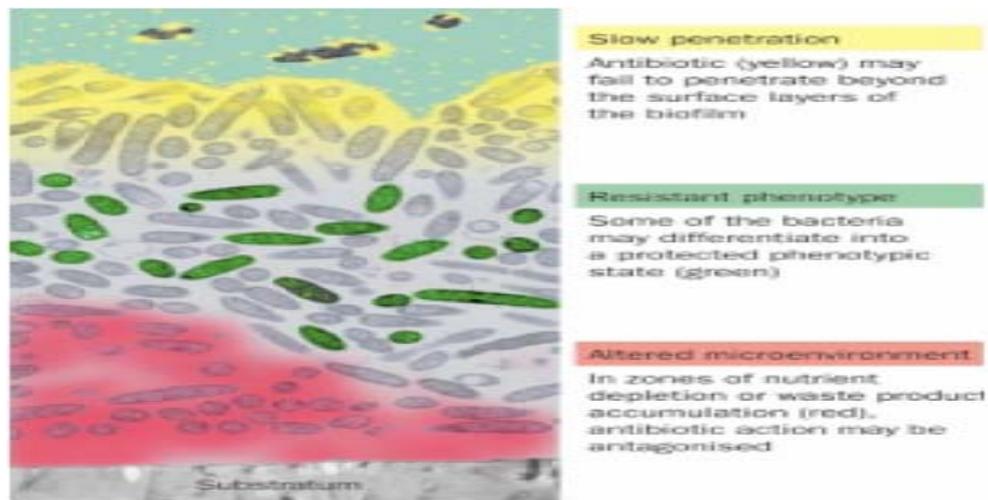
### Resistensi Biofilm terhadap Antibiotika <sup>4-6</sup>

Struktur dan fisiologik dasar dari biofilm membuat biofilm secara alami resisten terhadap

agen antimikroba seperti antibiotika, desinfektan, dan germisida. Hal ini dapat dilihat dari adanya perbedaan yang besar dalam hal kepekaan terhadap antibiotika (MIC) pada sel biofilm dan sel planktoniknya.

Faktor-faktor yang diperkirakan bertanggung jawab terhadap resistensi biofilm adalah :

1. Penurunan penetrasi dari antimikroba Biofilm terbungkus dalam matriks eksopolimer yang dapat menghambat difusi dari substansi dan mengikat antibiotika. Misalnya pada fluorokuinolon yang dapat dengan mudah merusak biofilm, sehingga antibiotika ini paling efektif dalam menghambat pertumbuhan biofilm. Tapi pada antibiotika jenis lain, difusi yang lambat ini dapat memberikan kesempatan bagi enzim-enzim seperti beta laktamase untuk menghancurkan antibiotika. Sinergi ini misalnya terjadi pada *P.aeruginosa* yang resisten terhadap antibiotika beta laktam.
2. Penurunan tingkat pertumbuhan organisme dalam biofilm Antimikroba lebih efektif dalam membunuh sel-sel yang tumbuh dengan cepat. Beberapa antibiotika memerlukan secara mutlak sel-sel yang tumbuh dalam mekanisme penghambatannya. Contohnya seperti Penisilin dan Ampisilin tidak dapat membunuh sel yang tidak sedang tumbuh, sementara spektrum beta laktam yang luas seperti sefalosporin, aminoglikosida dan fluorokuinolon dapat membunuh sel yang tidak sedang tumbuh, walaupun lebih lambat.
3. Ekspresi dari gen resistensi yang spesifik dari biofilm Hal ini dapat terlihat pada resistensi biofilm bakteri *P.aeruginosa*, dimana MDR *pump* memainkan peranan penting pada konsentrasi antibiotika yang rendah. Beta-galaktosidase berperan dalam respon *P.aeruginosa* terhadap imipenem dan piperacilin.



**Figure 2: Three hypotheses for mechanisms of antibiotic resistance in biofilms**  
The attachment surface is shown at the bottom and the aqueous phase containing the antibiotic at the top.

Gambar 7. Mekanisme Resistensi Biofilm terhadap Antibiotika

Faktor-faktor resistensi di atas dapat berdiri sendiri atau dapat merupakan gabungan dari semua faktor yang ada.

Beberapa eksperimen memperlihatkan adanya fraksi kecil sel *persisten* yang bertanggung jawab dalam hal ini. Pada biofilm, kemungkinan diproduksi *persisten* yang lebih banyak lagi daripada populasi sel planktonik. *Persisten* ini biasanya dihancurkan oleh sistem imun, dan menjadi masalah saat sistem imun tidak berfungsi. Infeksi biofilm lebih kurang sama dengan infeksi sel planktonik tanpa kehadiran sistem imun, eksopolimer dari biofilm melindungi sel dari komponen sistem imun.

Pada awal aplikasi antibiotika yang bersifat bakterisidal akan terjadi eradikasi hampir semua populasi, meninggalkan sedikit fraksi *persisten* yang bertahan. Jika konsentrasi antibiotika turun atau terapi dihentikan saat gejala penyakit sudah hilang, maka *persisten* akan membentuk kembali biofilm, dan infeksi akan timbul kembali. Dinamika ini menjelaskan adanya *relaps* pada infeksi biofilm dan perlunya terapi yang lebih lama.

### Eradikasi Biofilm

Eradikasi biofilm diperlukan untuk menghindari hal-hal sebagai berikut :

- Kegagalan terapi antibiotika
- Kronik eksaserbasi akut
- Infeksi persisten
- Fokus infeksi
- Potensial untuk infeksi sistemik

### Strategi Intervensi terhadap Biofilm

- a. Melindungi permukaan dengan molekul yang menghambat perlekatan mikroba dan merusak matriks yang diproduksi, contohnya :
  - Melapisi alat-alat medik dengan *chlorhexidin-silver sulfadiazine*
  - Melapisi alat-alat medik dengan kombinasi rifampisin dan minoksilin
  - Menggunakan gelombang elektromagnetik atau *ultrasound* dikombinasi dengan antibiotika
  - Penggunaan aerosol antibiotika seperti fluorokuinolon pada pasien cystic fibrosis
- b. Menghambat sel-sel *signaling* sehingga mengganggu pertumbuhan biofilm

- c. Menggunakan antibiotika atau desinfektan untuk menghambat strategi pertahanan biofilm, contohnya :
- Kombinasi Fosfomisin dan ofloksasin
- d. Menghambat gen-gen yang berperan dalam pembentukan biofilm dan gen yang mengatur sel-sel persisten.
- e. Melalui mekanisme *self destruction* misalnya *P.fluorescent* akan menghasilkan lyase yang dapat menghancurkan matriks filmnya berupa alginat pada lingkungan yang kekurangan oksigen. Hal ini mungkin terjadi untuk menjaga ketersediaan nutrisi bagi biofilm. Proses biofilm *self destruction* ini mungkin berperan gen-gen tertentu. Diharapkan dengan mengetahui gen-gen tersebut, dapat digunakan untuk eradikasi biofilm.

## Daftar Pustaka

1. Donlan RM, Costerton JW. Biofilm : Survival Mechanism of Clinically relevant Microorganism. Clin Microbial Rev 2002;15,167-193
2. Donlan RM. Biofilm : Microbial Life On Surfaces 2002;8, 881-890
3. Costerton JW, Stewart PS. Battling Biofilm. Scientific American 2001;61-67
4. Lewis K. Riddle Of Biofilm Resistance. Antimicrob Agents Chemotherapy 2001;45,999-1007
5. Stewart, PS, Costerton JW. Antibiotic Resistance Of Bacteria In Biofilm, Review. Lancet 2001;358, Juli
6. Mah TFC, O'Toole GA. Mechanism Of Biofilm Resistance To Antimicrobial Agent. Trends In Microbiology 2001; 9 No.1
7. [File://A](#): Quorum sensing associated molecules as promising antimicrobial targets molecular probes. Shroeck V, Ramm M.