

Peran *Biofilm* terhadap Infeksi Saluran Genital yang disebabkan oleh Vaginosis Bakterial

(The Role of Biofilm in Genital Tract Infection Caused by Bacterial Vaginosis)

Afif Nurul Hidayati, Chesia Christiani Liuwan

Departemen/Staf Medik Fungsional Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo Surabaya

ABSTRAK

Latar Belakang: Insidensi infeksi saluran genital, salah satunya Vaginosis Bakterial (VB) cukup tinggi pada banyak negara dan merupakan masalah kesehatan masyarakat yang cukup menonjol pada sebagian besar wilayah dunia. Kegagalan dalam mendiagnosis dan memberikan pengobatan dapat menimbulkan komplikasi yang serius dan berat dengan berbagai gejala sisa lainnya, antara lain infertilitas, kehamilan ektopik, infeksi pada neonatus, maupun penurunan kualitas bayi. Terdapat beberapa faktor yang memengaruhi patogenesis dan pengobatan VB, salah satunya *biofilm*. **Tujuan:** Tinjauan pustaka ini membahas peran *biofilm* dalam infeksi saluran genital akibat VB dalam patogenesis dan pengobatan. **Telaah kepustakaan:** *Biofilm* menghambat proses eliminasi dan terbunuhnya organisme patogen oleh antibiotik, sehingga infeksi menjadi lebih berat dan lama. *Biofilm Gardnerella vaginalis* menunjukkan resistensi yang tinggi dan mekanisme protektif yang kuat terhadap flora normal vagina, termasuk hidrogen peroksida dan asam laktat yang diproduksi oleh laktobasilus. Hal itu merupakan penyebab terjadinya *relapse* dan rekurensi yang tinggi dari VB. *Biofilm* dapat memengaruhi patogenesis dan pengobatan BV. *Biofilm* juga berperan dalam resistensi antibiotik. **Simpulan:** *Biofilm* memegang peranan kunci tidak hanya dalam hal patogenesis dari VB tetapi juga berperan terhadap kegagalan terapi dan rekurensinya.

Kata kunci: infeksi saluran genital, vaginosis bakterial, *biofilm*, resistensi antibiotik.

ABSTRACT

Background: The incidence of genital tract infections, including bacterial vaginosis (BV) in many countries are high, and being a public health problem in most regions of the world. Failure to diagnose and provide treatment can cause serious and severe complications with a variety of other sequelae, including infertility, ectopic pregnancy, infection in neonates, and decreasing the quality of baby. There are several factors that influence the pathogenesis and treatment of BV, one of which is the role of biofilm. **Purpose:** to discuss the role of biofilm in genital tract infection due to BV especially in pathogenesis and treatment. **Review:** Biofilm inhibits the process of elimination and killing of pathogenic organisms by antibiotics, so that infection become heavier and longer. *Gardnerella vaginalis* biofilm shows high resistance and a strong protective mechanism against normal vaginal flora, including hydrogen peroxide and lactic acid produced by lactobacillus. This is the cause of the relapse and high recurrence of BV. Biofilm can affect the pathogenesis and treatment of BV. Biofilm also play a role in antibiotic resistance. **Conclusions:** Biofilm plays a key role not only in terms of the pathogenesis of BV, but also in therapeutic failure and recurrence.

Key words: genital tract infection, bacterial vaginosis, biofilm, antibiotic resistance.

Alamat korespondensi: Afif Nurul Hidayati. Departemen/Staf Medik Fungsional Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo, Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo No. 6- 8 Surabaya 60131, Indonesia. Telepon: +62315501609, e-mail: afif_nurulhidayati@fk.unair.ac.id.

PENDAHULUAN

Infeksi saluran genital merupakan masalah kesehatan masyarakat yang cukup menonjol pada sebagian besar wilayah dunia. Insidensi kasus infeksi saluran genitalia tinggi pada banyak negara. Kegagalan dalam mendiagnosis dan memberikan pertolongan pengobatan pada stadium dini dapat menimbulkan

komplikasi yang serius dan berat dengan berbagai gejala sisa, antara lain fertilitas, akibat buruk pada bayi, kehamilan ektopik, kanker anogenital, kematian dini, serta infeksi baik pada neonatus maupun pada bayi.¹

Biofilm dapat meningkatkan toleransi bakteri terhadap kondisi lingkungan yang membahayakan. Bakteri dapat bertahan agar tidak terbawa aliran cairan

tubuh atau darah dengan melekatkan diri pada permukaan jaringan. *Biofilm* dapat melekat kuat dan melawan gaya gesek yang berulang-ulang. Sel-sel pada *biofilm* melekat sekitar 1000 kali lebih kuat dari bentuk planktoniknya.^{2,3} *Biofilm* tersusun atas Substansi Polimerik Ekstraseluler (SPE), yaitu matriks polimer dengan berat molekul tinggi yang disekresi oleh bakteri ke lingkungan. Matriks SPE di lapisan yang lebih dalam dapat melindungi sel bakteri terhadap agen antimikroba dengan membatasi difusi antimikroba tersebut. *Biofilm* membatasi mobilitas bakteri, meningkatkan densitas sel, dan menyediakan lingkungan yang optimal untuk pertukaran *environmental Deoxyribonucleatid acid (DNA)* secara konjugasi. Hal tersebut berperan pada sistem yang mengkode resistensi antibiotik.³

Beberapa bakteri dapat beralih bentuk, berupa planktonik maupun *biofilm*. Bakteri planktonik memiliki pertumbuhan sel dan tingkat reproduksi yang relatif tinggi, namun bentuk *biofilm* tampaknya menjadi bentuk alami dan dominan bagi bakteri.² Hal itu yang diduga menjadi sebab terbesar dari kegagalan terapi saat ini. Peningkatan resistensi antimikroba terhadap beberapa kuman penyebab infeksi menular seksual telah menyebabkan rejimen pengobatan menjadi semakin tidak efektif, di samping itu keberadaan infeksi saluran genital yang kian meningkat dan sulit untuk sembuh akan mengakibatkan terjadinya komplikasi dan berdampak pada biaya pengobatan yang sangat besar.¹⁻³ Hal itu mendorong berkembangnya penelitian untuk melawan *biofilm*, atau lebih dikenal dengan agen *antibiofilm*. Artikel ini membahas tentang peran *biofilm* dalam infeksi saluran genital khususnya yang disebabkan oleh bakteri.

TELAAH KEPUSTAKAAN

Robert Koch, bapak mikrobiologi modern, pada tahun 1970-an menemukan bahwa sebagian besar bakteri dianggap sebagai mikroorganisme tunggal yang bebas mengambang (planktonik). Berdasarkan temuan ini, para ilmuwan telah belajar banyak mengenai bakteri mematikan dan mengembangkan bakteriosida untuk membunuh bakteri tersebut. Munculnya bakteri resisten terhadap obat dan sulitnya membunuh beberapa bakteri memicu dilakukannya evaluasi ulang terhadap cara hidup bakteri. Saat ini ditemukan bahwa terdapat proses agregasi bakteri di dalam matriks yang diproduksinya sendiri, disebut *biofilm*, yang memicu mekanisme resistensi bakteri terhadap bakteriosida. *Biofilm* sebetulnya telah dikenali beberapa abad sebelum relevansinya dengan penyakit disadari. Pada tahun 1684, seorang ilmuwan Belanda, Antonie van Leeuwenhoek, melihat plak gigi menggunakan mikroskop dan digambarkannya sebagai

ketombe. Pada awal abad ke-20, banyak ilmuwan melaporkan bahwa sebagian besar bakteri tidak mengambang bebas tetapi melekat pada suatu permukaan. Para ilmuwan mulai menyadari kaitan langsung bakteri dengan penyakit ketika pada tahun 1977 ditemukan agregasi *Pseudomonas aeruginosa* di dahak dari paru-paru pasien dengan kistik fibrosis yang terinfeksi. Pada tahun 1978, Clark melaporkan bahwa komponen penting pada mutasi *biofilm Streptococcus* adalah polisakarida glikokaliks yang terbentuk pada gigi.

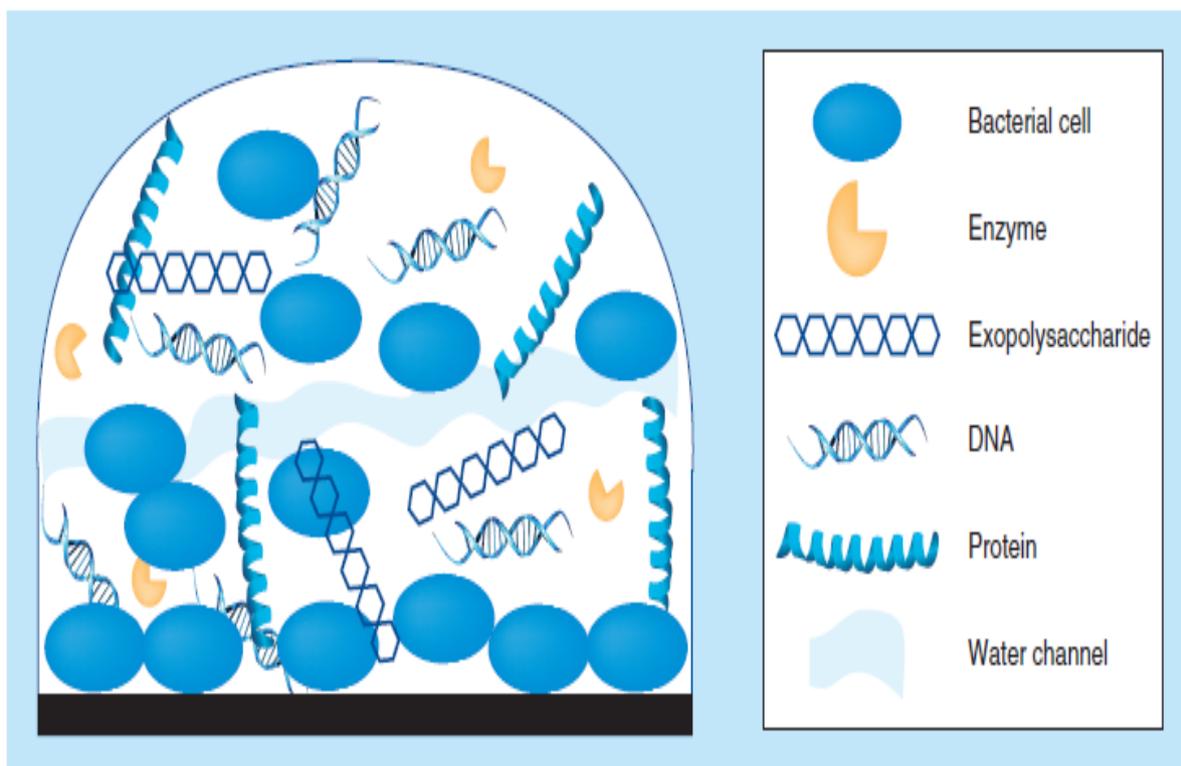
Istilah *biofilm* secara resmi diperkenalkan pada tahun 1978 oleh Costerton. *Biofilm* memiliki morfologi yang bervariasi tergantung pada konstituen bakteri serta kondisi di mana *biofilm* dibentuk. Baru-baru ini ditemukan pembentukan *biofilm* oleh sekelompok bakteri yang sering berhubungan dengan resistensi antimikroba sehingga menyebabkan kematian yang tinggi. Kelompok bakteri ini disebut *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Enterobacter spp* (ESKAPE). Beberapa penelitian berhasil memperdalam pemahaman tentang pembentukan *biofilm* oleh bakteri *Streptococcus sobrinus* dan *Streptococcus mutans* yang menyebabkan karies gigi, serta bakteri *Proteus mirabilis* pada implan.^{2,4}

Struktur *biofilm* terdiri dari substansi polimerik ekstraseluler (SPE), yaitu matriks dari bahan yang disekresi oleh bakteri ke lingkungan. Substansi polimerik ekstraseluler ini terdiri dari eksopolisakarida, protein, dan asam nukleat (DNA). Eksopolisakarida dapat disintesis ekstraseluler atau intraseluler, dan dapat disekresikan oleh bakteri ke luar lingkungan. Pada mikroskop elektron, mereka terlihat sebagai linear atau untaian panjang bercabang yang melekat di permukaan sel dan teregang keluar untuk membentuk jaringan yang besar. Eksopolisakarida berfungsi sebagai penyangga untuk karbohidrat, protein, asam nukleat, dan lipid untuk melekat dan menyatu. Komponen, struktur, dan sifat dari eksopolisakarida berbeda satu sama lain.⁴ Nelson dan kawan-kawan menganalisis komposisi dan keterkaitan SPE dari *E. faecalis*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. Aeruginosa*, dan *Enterobacter spp*. Manosa, galaktosa, dan glukosa adalah karbohidrat paling banyak, diikuti oleh N-asetil-glukosamin, asam galakturonik, arabinosa, *fucose*, *rhamnose*, dan *xylose*. Eksopolisakarida tidak spesifik untuk suatu *biofilm* tertentu, akan tetapi produksinya dapat meningkat sebagai akibat dari respons stres, seperti produksi asam *colanic* di *Escherichia coli* dan sintesis alginat di *P. aeruginosa*. Asam *colanic*, juga dikenal sebagai

antigen M, merupakan heteropolisakarida ekstraseluler ditemukan dalam *Enterobacter spp.*²

Protein ekstraseluler merupakan komponen SPE. Beberapa protein melekat pada permukaan sel dan polisakarida untuk membantu pembentukan dan stabilisasi *biofilm*. Salah satu contoh adalah ikatan glukon protein yang disebut *Glucan Binding Proteins* (GBPs) di *biofilm S. mutans*. GBPs memainkan peran penting dalam pemeliharaan arsitektur *biofilm* dengan menghubungkan bakteri dengan eksopolisakarida. *Biofilm* yang dihasilkan oleh mutasi GBPs memiliki pengurangan ketinggian yang signifikan. Amiloid merupakan protein berserat yang mendukung arsitektur *biofilm*. Salah satu contoh adalah *Functional amyloid in Pseudomonas* (Fap) pada *Pseudomonas spp.* Ekspresi Fap yang berlebihan menyebabkan

peningkatan agregasi sel dan pembentukan *biofilm*. Amiloid protein TasA adalah salah satu komponen utama *biofilm B. subtilis*. TasA membentuk serat kuat yang dapat menahan sel *biofilm* bersama-sama dan dapat menoleransi upaya destruksi yang kuat. Beberapa enzim terlibat dalam proses degradasi *biofilm*. Substrat enzim tersebut termasuk polisakarida, protein, asam nukleat, selulosa, lipid, komponen SPE lainnya, dan benda-benda yang terperangkap dalam matriks SPE. Enzim ini dapat merusak biopolimer dan menyediakan karbon serta energi untuk sel *biofilm*, terutama saat dibutuhkan. Proses perusakan *biofilm* juga membutuhkan enzim. Degradasi matriks internal SPE oleh enzim yang dikeluarkan oleh sel *biofilm* akan merangsang mulainya siklus hidup baru dari *biofilm* yang baru.²



Gambar 1. Struktur *biofilm*.²

DNA ekstraseluler (eDNA) selama ini dianggap sebagai sisa dari proses lisis sel sampai Mattick dan rekan menemukan bahwa DNase dapat mencegah pembentukan *biofilm P. aeruginosa*. Fakta bahwa eDNA tidak hanya berasal dari sel-sel lisis akan tetapi juga disekresi secara aktif menunjukkan bahwa eDNA memiliki peran penting dalam pembentukan *biofilm*. Muatan negatifnya melepas perlekatan awal, akan tetapi ketika jarak antara sel dan permukaan menjadi beberapa nanometer, eDNA berinteraksi dengan reseptor di substrat untuk memfasilitasi adesi.⁵ Selain itu, eDNA juga berfungsi untuk mengkoordinasikan

gerakan sel *P. aeruginosa* yang berdenyut sebagai proses ekspansi *biofilm*. Akibat muatan negatifnya, eDNA mampu menarik logam kation dan beberapa antibiotik bermuatan positif. eDNA dapat menarik ion Magnesium (Mg^{2+}) dan mengaktifkan sistem dua komponen PhoPQ dan PmrAB, yang mengarah ke peptida antimikroba dan berpengaruh pada resistensi bakteri. Pada *S. epidermidis*, eDNA juga ditemukan menghambat transportasi vankomisin dalam *biofilm* dan melindungi bakteri yang terdapat di dalam *biofilm*. Penelitian saat ini mengembangkan pengetahuan mengenai peran eDNA pada proses maturasi *biofilm*

untuk menjelaskan perannya dalam pengembangan *biofilm*.⁶

Banyak bakteri dapat beralih bentuk berupa planktonik atau *biofilm*. Bakteri planktonik memiliki pertumbuhan sel dan tingkat reproduksi yang relatif tinggi, namun bentuk *biofilm* tampaknya menjadi bentuk alami dan dominan bagi bakteri. Beberapa alasan dapat menjelaskan hal tersebut. Pertama, *biofilm* dapat meningkatkan toleransi bakteri terhadap kondisi lingkungan yang membahayakan. Bakteri dapat terhindar dari terbawa dan terlepas akibat aliran air atau darah dengan melekatkan diri pada permukaan jaringan. *Biofilm* dapat kuat melekat dan melawan gaya gesek yang berulang-ulang. Sel-sel pada *biofilm* melekat sekitar 1000 kali lebih kuat dari bentuk planktoniknya. Kedua, matriks SPE dapat melindungi sel bakteri, di lapisan yang lebih dalam, terhadap agen antimikroba dengan membatasi difusi antimikroba ini. *Biofilm* membatasi mobilitas bakteri dan meningkatkan densitas sel dan juga menyediakan lingkungan yang optimal untuk pertukaran eDNA plasmid secara konjugasi, hal tersebut akan berperan pada sistem yang mengkode resistensi antibiotik. Seperti yang telah dilaporkan oleh Hausner dan Wuertz, tingkat pertukaran gen secara horizontal lebih tinggi dalam *biofilm* daripada di sel planktonik.²

Sebuah syarat *biofilm* dapat terbentuk adalah letak bakteri harus cukup dekat ke permukaan. Sebagai usaha untuk mendekati bakteri ke permukaan adalah terdapat gaya tarik menarik. Pada saat jarak tercapai sekitar 10-20 nm dari permukaan, muatan negatif pada bakteri seharusnya akan ditolak oleh muatan negatif pada permukaan. Akan tetapi gaya penolakan ini dapat berubah menjadi gaya tarik akibat gaya Van Der Waals yang terjadi antara sel bakteri dan permukaan yang dibantu oleh *fimbriae* dan flagela untuk memberikan daya tarik mekanik.⁷ Pembentukan *biofilm* dapat disimpulkan terdiri dari tiga tahap, yaitu penarikan atau penempelan, pematangan atau maturasi, dan dispersi.²

Proses penempelan dapat dikategorikan menjadi dua tahap, yaitu penempelan awal *reversible* dan *irreversible*. Penempelan yang *irreversible* memiliki daya toleransi fisik (gaya gesek) dan toleransi kimia yang lebih kuat. Pada penempelan tahap awal, flagela dan pergerakan yang diperantarai filii tipe IV merupakan hal yang penting. Flagela memegang peranan penting dalam interaksi antara sel bakteri dan permukaan. Pergerakan berdenyut yang diperantarai filii tipe IV dapat membentuk agregasi sel bakteri dan membentuk mikrokoloni. Penelitian yang dilakukan oleh O'Toole dan Kolter menunjukkan bahwa mutasi flagela *P. aeruginosa* tidak dapat mendekatkan sel

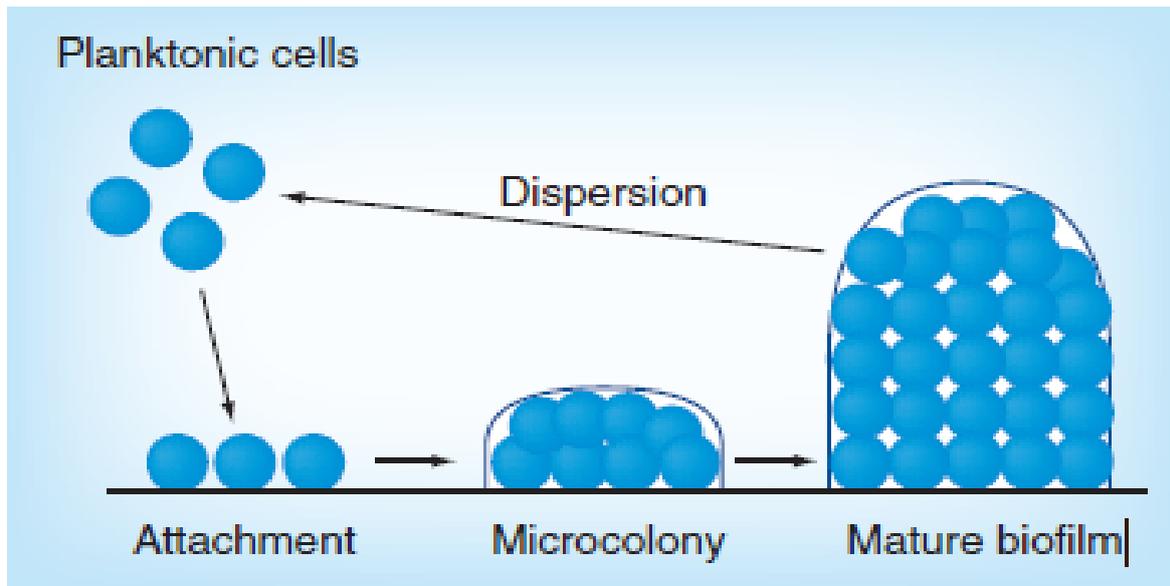
bakteri ke permukaan, serta mutasi pada filii tipe IV berakibat tidak dapat terbentuknya mikrokoloni.⁷

Langkah awal pembentukan *biofilm* pada bakteri patogen *S. epidermidis* dan *S. aureus* adalah penempelan pada matriks protein, seperti fibronektin (Fn), fibrinogen (Fg), vitronektin (Vn), dan lain-lain. Komponen permukaan mikroba mengenali molekul matriks penempel tergantung pada daya adhesi yang terikat secara kovalen dengan peptidoglikan di dinding sel. *S. aureus* memiliki lebih dari 20 komponen yang berfungsi untuk mengenali matriks gen penempel sementara *S. epidermidis* hanya memiliki 12 komponen.²

Ikatan nonkovalen seperti yang dimediasi oleh enzim *autolysin* juga berperan pada tahap awal penempelan *biofilm*. Produksi matriks SPE menandakan fase *irreversible* pada proses penempelan bakteri ke permukaan sel. Matriks SPE dari *P. aeruginosa* telah dipelajari dengan baik, mungkin karena *biofilm P. aeruginosa* berperan pada perkembangan penyakit kistik fibrosis. Alginat adalah sebuah polisakarida yang merupakan komponen utama dari matriks SPE *P. aeruginosa* yang diproduksi oleh bakteri yang baru melekat pada permukaan sel dalam jumlah yang lebih banyak daripada sel-sel planktonik. Faktor σ AlgU (AlgT) diperlukan untuk produksi alginat agar dapat menurunkan regulasi dari flagela.²

Setelah lapisan pertama dari *biofilm* selesai terbentuk, akan terjadi penarikan sel-sel dari spesies yang sama atau spesies lainnya ke *biofilm*. *Biofilm* tumbuh dari lapisan tipis kemudian makin banyak sehingga berbentuk seperti jamur atau menara.⁸ Dalam lapisan *biofilm* yang tebal (>100 lapisan), bakteri tersusun menurut proses metabolismenya dan kemampuan toleransi terhadap kebutuhan oksigennya. Misalnya, bakteri anaerob lebih memilih untuk tinggal di lapisan yang lebih dalam untuk menghindari paparan oksigen. Bakteri dalam *biofilm* berorganisasi satu sama lain dan mengambil fungsi khusus masing-masing. Struktur *biofilm* seperti protein, DNA, polisakarida, dan lain-lain akan disekresikan ke *biofilm* yang mengalami maturasi.

Setelah proses maturasi *biofilm* selesai, maka akan masuk dalam tahap pemecahan, yang juga merupakan tahap paling penting dalam siklus hidup *biofilm*. Pemecahan *biofilm* dapat disebabkan karena berbagai faktor seperti kurangnya nutrisi, persaingan yang ketat, populasi terlalu besar, dan lain-lain. Penyebaran dapat terjadi di seluruh *biofilm* atau hanya di bagian itu saja. Pelepasan bakteri planktonik merangsang inisiasi terbentuknya *biofilm* baru di bagian atau tempat lain.



Gambar 2. Proses pembentukan *biofilm*.²

Untuk membentuk *biofilm*, bakteri harus melakukan sinkronisasi ekspresi gen mereka dan beberapa menggunakan sistem *quorum-sensing* (QS) untuk mencapai hal ini. *Quorum sensing* adalah mekanisme bakteri yang memantau kepadatan sel dan mengatur suatu perilaku kolektif. Perlu diketahui bahwa isu pemantauan populasi bakteri melalui QS masih hangat diperdebatkan dan banyak hipotesis yang muncul terkait peran molekul yang terlibat dalam QS.⁸

Populasi bakteri mengkoordinasikan ekspresi gen mereka dengan memproduksi dan menanggapi berbagai signal intraseluler dan interseluler yang disebut sebagai '*autoinducers*'. Bakteri 'berkomunikasi' satu sama lain menggunakan bahan kimia dan molekul-molekul kecil. Misalnya, asil-homoserine laktone (AHL) memediasi QS pada bakteri gram negatif. Ada beberapa jenis AHL, tergantung pada panjang dan fungsi dari rantai samping asil. Peptida kecil mengatur ekspresi gen QS pada bakteri Gram-positif dan *autoinducer-2* (AI-2) mengatur QS pada bakteri gram positif dan gram negatif, meskipun perannya dalam mengantarkan signal sel masih kontroversial.²

Pada bagian dengan tingkat kepadatan sel yang rendah, sejumlah kecil *autoinducer* terdapat pada media ekstraseluler, akan tetapi terlalu encer untuk dideteksi kadarnya. Apabila kepadatan sel meningkat, konsentrasi *autoinducer* mencapai ambang batas pada titik ini dan *autoinducer*/protein regulator (reseptor) berfungsi untuk menginduksi atau menekan ekspresi dari gen target. QS mengontrol beragam proses fisiologis, misalnya *bioluminescence*, sekresi faktor virulensi, pembentukan *biofilm*, resistensi antibiotik, dan banyak lagi. QS telah ditunjukkan untuk mengatur pembentukan *biofilm* dalam beberapa spesies bakteri.

Biofilm terkait dengan berbagai penyakit. Banyak infeksi bakteri yang terkait *biofilm*, misalnya penyakit paru-paru kronis, luka, infeksi gigi dan telinga, serta infeksi katup jantung. *Biofilm* juga mampu membuat koloni pada perangkat medis seperti kateter, selang infus, dan implan. Menurut *National Institutes of Health* (NIH), lebih dari 80% infeksi mikroba terkait dengan *biofilm*. Infeksi ini merupakan jenis yang sulit untuk didiagnosis dan diobati.²

Bakteri pada *biofilm* lebih tahan terhadap antibiotik atau lebih reaktif terhadap molekul yang diproduksi oleh sistem kekebalan tubuh. Diperkirakan bahwa sel *biofilm* bisa sampai 10.000 kali lebih tahan terhadap antibiotik daripada sel planktonik. Costerton dan kawan-kawan mengamati bahwa ketika dia mengobati *biofilm P. aeruginosa* dan sel planktoniknya dengan tobramisin, sel *biofilm* bisa mentolerir sampai dengan 1 mg/ml tobramisin sedangkan sel planktonik bisa bertahan tidak lebih dari 50 µg/ml tobramisin, tapi Abee dan kawan-kawan juga melaporkan bahwa dengan penggunaan dua desinfektan yang berbeda, benzalkonium klorida dan natrium hipoklorit, konsentrasi efektif untuk menghambat *biofilm S. aureus* adalah 50 dan 600 kali lebih tinggi dari yang dibutuhkan untuk menghambat sel planktoniknya. Hal yang menyebabkan peningkatan resistensi antibiotik oleh *biofilm* belum sepenuhnya dipahami. Hal ini sangat mungkin bahwa beberapa faktor bekerja sama untuk melindungi sel-sel *biofilm* dari antibiotik.

Terdapat 3 mekanisme yang mungkin memengaruhi resistensi antibiotik. Mekanisme pertama, terbatasnya penetrasi antibiotik dimana matriks SPE memainkan peranan penting dalam

resistensi antibiotik dengan membatasi penetrasi antimikroba dalam *biofilm*. Polisakarida dan eDNA dapat menangkap beberapa jenis antibiotik. Suci dan kawan-kawan mengukur kemampuan penetrasi antibiotik pada membran dasar *biofilm* dan hasilnya menunjukkan bahwa masih terdapat konsentrasi ciprofloksasin pada *biofilm P. aeruginosa* meskipun secara dramatis sangat rendah. Steward dan kawan-kawan menyelidiki keterbatasan penetrasi ampisilin dan ciprofloksasin pada *K. pneumoniae*. Ciprofloksasin memiliki kemampuan penetrasi jauh lebih baik dari ampisilin. Sebagai kesimpulan, sel *biofilm* dapat menoleransi konsentrasi ampisilin akan tetapi resistensi *biofilm* terhadap ciprofloksasin masih rendah.⁹ Mekanisme kedua adalah transfer gen horizontal. Beberapa bakteri dapat mengalami resistensi antibiotik melalui mutasi acak pada gen, selain itu beberapa mungkin menyimpan gen resistennya di plasmid. Plasmid dapat dengan mudah diteruskan ke sel lain melalui transfer gen horizontal. Pada *biofilm*, frekuensi transfer horizontal dari plasmid tersebut jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan sel planktonik. Beberapa penelitian pada *biofilm S. aureus* menunjukkan bahwa gen resistensi antibiotik tersebut menyebar dengan cara konjugasi.¹⁰ Mekanisme ketiga adalah pengurangan tingkat pertumbuhan akibat keterbatasan oksigen dan nutrisi pada *biofilm*. Hal tersebut menyebabkan sel-sel *biofilm* terutama yang terletak di lapisan dalam, memiliki tingkat metabolisme dan tingkat pertumbuhan yang lambat, sehingga obat antibiotik yang memiliki target sel-sel tertentu yang sudah berdiferensiasi menjadi tidak sensitif.² Pada *biofilm*, ada subpopulasi kecil yang disebut sel persisten. Laju pertumbuhan mereka adalah nol atau sangat lambat. Sebagian besar antibiotik yang saat ini digunakan menargetkan proses yang relevan untuk pertumbuhan sel atau divisi, tidak efektif terhadap sel persisten, oleh karena itu sel-sel ini bertindak sebagai reservoir penyakit yang bisa mengaktifkan kembali partikel infeksius apabila efek antibiotik hilang.³ Sistem pompa keluar memungkinkan sel bakteri untuk memompa toksin intraseluler keluar, termasuk obat antibiotik. Sistem pompa keluar ini juga tersedia pada sel planktonik. Akan tetapi beberapa gen pompa keluar meningkat pada *biofilm* (mengalami *upregulating*) dan berperan pada resistensi antibiotik.²

Vaginosis Bakterial (VB) merupakan salah satu keadaan yang berkaitan dengan keputihan abnormal pada wanita usia reproduksi. VB merupakan sindrom polimikroba dengan patogenesis laktobasilus vagina normal, khususnya yang menghasilkan hidrogen peroksidase, digantikan oleh berbagai bakteri anaerob dan mikoplasma. Bakteri yang sering ada pada BV

adalah *G. vaginalis*, *Mobiluncus sp*, *Bacteroides sp*, dan *M. hominis*.¹¹

Prevalensi VB sulit untuk ditentukan karena sepertiga wanita yang terinfeksi bersifat asimtomatik. VB merupakan infeksi vagina tersering pada wanita usia reproduktif.^{1,12} Beberapa faktor merupakan faktor risiko terjadinya VB, yaitu aktivitas seksual, kebiasaan *douching*, merokok, dan penggunaan alat kontrasepsi dalam rahim (AKDR).

VB ditandai dengan hilangnya laktobasilus penghasil hidrogen peroksidase dan pertumbuhan pesat spesies anaerob.¹¹⁻¹³ Tidak diketahui secara pasti mana peristiwa yang mendahului, apakah terdapat faktor yang dapat menyebabkan kematian laktobasilus sehingga bakteri anaerob ini berkembang secara pesat atau bakteri anaerob yang sangat banyak jumlahnya menyebabkan laktobasilus menghilang. Pertanyaan dasar yang merupakan patogenesis VB ini masih belum terjawab sampai sekarang.

Sejumlah perubahan biokimia juga telah dijelaskan, epitel vagina normal dilapisi oleh lapisan musin tipis. Pada VB lapisan pelindung ini digantikan oleh *biofilm* yang dihasilkan *G. vaginalis*. β defensin - 1 dan konsentrasi *secretory leukosit protease inhibitor* juga berkurang pada BV. Interleukin (IL) 1 α , 1 β , dan reseptor 1 agonis meningkat, IL8 (sitokin leukotaktik primer) berkurang. Terjadi peningkatan pada protein 70 kD *heat shock*, enzim *lytic sialidase*, matriks metaloproteinase 8 dan fosfolidase A2, nitrit oksida, dan endotoksin juga ditemukan pada vagina dengan VB. Semua hal tersebut dapat menghilangkan mekanisme proteksi normal dan meningkatkan terjadinya proses inflamasi.¹⁴

Biofilm memiliki peranan pada infeksi saluran genital karena bakteri, khususnya VB. VB merupakan sindrom polimikroba yang terjadi akibat laktobasilus normal vagina khususnya yang menghasilkan hidrogen peroksidase, yang kemudian digantikan oleh berbagai bakteri anaerob dan mikoplasma. Bakteri yang sering ada pada VB adalah *G. vaginalis*, *Mobiluncus sp*, *Bacteroides sp*, dan *M. hominis*. Penelitian terkini membuktikan bahwa terjadinya VB dipengaruhi oleh *biofilm* yang terdiri dari gerombolan kluster *G. vaginalis* yang padat dan menempel erat pada permukaan epitel vagina.¹⁵

Biofilm merupakan komunitas mikroorganisme yang menempel pada permukaan dan memproduksi matriks SPE, protein, dan asam nukleat (DNA).²⁻⁵ Fakta menunjukkan bahwa bakteri yang terdapat di dalam *biofilm* tidak dapat tereliminasi secara efektif oleh sistem imun atau terbunuh dan dirusak oleh antibiotik, maka bukan hal yang mengejutkan jika infeksi yang berhubungan dengan *biofilm* akan menjadi berat dan lama.³ Beberapa penelitian mengenai *biofilm*

G. vaginalis menunjukkan resistensi yang tinggi dan mekanisme protektif yang kuat terhadap flora normal vagina, termasuk hidrogen peroksida dan asam laktat yang diproduksi oleh laktobasilus.¹⁷ Hal ini merupakan alasan terjadinya kekambuhan dan rekurensi yang tinggi dari VB, oleh karena itu dapat kita simpulkan bahwa *biofilm* memegang peranan kunci, tidak hanya dalam hal patogenesis VB, akan tetapi juga kegagalan terapi dan rekurensinya.^{15,17}

PEMBAHASAN

Meskipun banyak penemuan terbaru tentang bakteri penyebab VB, akan tetapi pengobatan VB masih tetap bertujuan menekan pertumbuhan bakteri dan mengembalikan flora normal vagina. *Centers for disease control* (CDC) merekomendasikan semua wanita yang memiliki keluhan seharusnya diterapi, mengingat banyaknya keuntungan yang bisa diperoleh, termasuk pengurangan penularan infeksi menular seksual.^{15,16} Dahulu VB diobati menggunakan metronidazol, klindamisin, dan tinidazol. Saat ini metronidazol ditetapkan sebagai obat lini pertama untuk VB.

Rendahnya efikasi antimikroba dalam mencegah rekurensi mungkin disebabkan oleh ketidakmampuan untuk mengeradikasi *biofilm* yang terbentuk secara keseluruhan dan tuntas. Swidinski dan kawan-kawan meneliti pengaruh terapi oral metronidazol terhadap *biofilm G. vaginalis* dan menyimpulkan bahwa *biofilm* hanya tersupresi sementara saja dan pada banyak kasus akan kumat kembali setelah beberapa saat menyelesaikan terapi.¹⁸ Berdasarkan penelitian ini maka diperlukan agen antimikroba yang dapat mengeradikasi patogen vagina dan *biofilm*nya secara tuntas. Dengan terbuktinya VB sebagai salah satu infeksi yang berhubungan dengan *biofilm* memicu keingintahuan para peneliti untuk menemukan agen yang dapat merusak *biofilm*. Salah satu agen yang diketahui dapat merusak *biofilm* adalah antiseptik.

Selama beberapa dekade antiseptik digunakan dalam pengobatan infeksi vagina. Antiseptik memiliki efek antibakteri dengan spektrum luas dengan cara kerja merusak membran sel. Povidon iodine, hidrogen peroksida, klorheksidin, dan oktenidin hidroklorid (*phenoxyethanol*) merupakan antiseptik yang sering digunakan. Meskipun efek antiseptik terhadap pengobatan VB masih belum terbukti secara jelas, akan tetapi penelitian Swidinski dan kawan-kawan melaporkan bahwa penggunaan oktenidin memberikan angka kesembuhan VB yang cukup tinggi.¹⁵ Probiotik dan prebiotik diduga dapat mengatasi *biofilm* pada VB. Strategi lain dalam melawan VB adalah dengan memodulasi flora normal vagina dengan menggunakan probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup

yang dapat meningkatkan kesehatan *host* jika diberikan dalam jumlah yang sesuai. Pada vagina manusia, *lactobacillus* tertentu dapat berfungsi sebagai probiotik dan mencegah pertumbuhan VB melalui dua mekanisme, yaitu mencegah adhesi patogen ke epitel dan memproduksi komponen antimikroba seperti hidrogen peroksida, asam laktat, dan bakteriosin. Probiotik sering digunakan sebagai terapi tambahan yang mendampingi antibiotik dan menunjukkan angka kesembuhan yang cukup tinggi. Probiotik juga dapat digunakan pada kasus dengan *biofilm*. Penelitian oleh Mc Millan dan kawan-kawan pada tahun 2011 menunjukkan bahwa probiotik *L. reuteri* Rc-14 dan *L. rhamnosus* GR-1 dapat melawan *biofilm* VB yang terdiri dari *G. vaginalis* dan *A. vaginae* serta menyebabkan rusaknya struktur *biofilm* dan kematian sel bakteri. Penemuan tersebut menguatkan pendapat bahwa probiotik dapat mengeradikasi *biofilm* patogen vagina dan mengembalikan flora normal vagina. Prebiotik merupakan suatu substansi nutrisi yang dapat merangsang pertumbuhan probiotik.^{19,20}

Penggunaan komponen derivat tanaman dalam mengobati infeksi genital masih dalam tahap perkembangan. Braga dan kawan-kawan menemukan bahwa *thymol*, molekul yang ditemukan pada minyak esensial *thyme*, dapat menghambat pematangan *biofilm G. vaginalis*.^{21,22}

Antimikroba alami, bakteriosin, juga telah diteliti fungsinya sebagai terapi alternatif untuk melawan VB melalui mekanisme menghambat pertumbuhan bakteri planktonik tanpa mengganggu flora normal vagina. *Lauramide Arginin Ethyl Ester* (LAE) merupakan salah satu agen antimikroba alami yang berpotensi merusak *biofilm* VB. LAE juga berkerja secara sinergis dengan metronidazol dan klindamisin dalam menghambat *biofilm G. vaginalis*. Hal ini memberikan peluang terapi kombinasi antibiotik dengan antimikroba alami yang dapat meningkatkan angka kesembuhan, terutama pada kasus dengan resistensi antimikroba.¹⁵

Sabun yang mengandung asam laktat dan laktoserum dapat digunakan untuk membersihkan vagina dari luar dan menurunkan rekurensi VB setelah mendapat terapi metronidazol oral. Vitamin C yang dilapisi oleh silikon dapat mengeluarkan agen aktif secara konstan yang menyebabkan pH vagina tetap terjaga dan mencegah iritasi vagina. Penggunaan vitamin C secara teratur selama 6 hari dalam 1 bulan selama 6 bulan terbukti dapat menurunkan resiko rekurensi VB.²³

Tentang agen anti *biofilm* lainnya bisa dijelaskan sebagai berikut. Penemuan inovatif meliputi penggunaan DNase yang memiliki target merusak DNA ekstraselular. DNA ekstraselular merupakan struktur penting yang menjaga integritas *biofilm*.

Dengan menggunakan DNase ini maka akan terjadi kerusakan DNA ekstraselular secara enzimatis dan berakibat pada rusaknya struktur *biofilm* yang telah terbentuk serta dapat mencegah terbentuknya *biofilm* baru. Retrosiklin 101 merupakan peptida antimikroba sintesis dengan aktivitas antivirus. Retrosiklin 101 menghambat aktivitas sitolitik dari vaginolisin, toksin yang diproduksi oleh *G. vaginalis*. Kedua agen anti *biofilm* ini merupakan terapi yang cukup menjanjikan dan dapat digunakan baik sendiri maupun kombinasi dengan antibiotik dalam mengobati kasus VB.²⁴

Penelitian telah membuktikan bahwa kegagalan terapi yang terjadi saat ini terutama disebabkan oleh terbentuknya *biofilm*. Ketidakmampuan antibiotik untuk menembus lapisan protektif *biofilm* menyebabkan terbatasnya penetrasi. Hal ini menyebabkan *biofilm* tetap akan berkembang dan mengalami maturasi sehingga bakteri dapat dengan mudah menyebar dan membentuk *biofilm* yang baru. Oleh karena proses yang kompleks dan keterkaitan banyak spesies patogen dari suatu infeksi, maka perlu dipertimbangkan terapi kombinasi antara antibiotik dengan terapi penunjang lainnya agar tercapai suatu keberhasilan terapi.^{12,18}

Biofilm menghambat proses eliminasi dan terbunuhnya organisme patogen oleh antibiotik, maka bukan hal yang mengejutkan jika infeksi yang berhubungan dengan *biofilm* akan menjadi berat dan lama. Beberapa penelitian menunjukkan *biofilm G. vaginalis* menunjukkan resistensi yang tinggi dan mekanisme protektif yang kuat terhadap flora normal vagina, termasuk hidrogen peroksida dan asam laktat yang diproduksi oleh laktobasilus. Hal ini merupakan alasan terjadinya *relaps* dan rekurensi yang tinggi dari VB. Oleh karena itu dapat kita simpulkan bahwa *biofilm* memegang peranan kunci tidak hanya dalam hal patogenesis dari VB akan tetapi juga kegagalan terapi dan rekurensinya.

Terapi yang saat ini digunakan untuk mengobati infeksi saluran genital masih belum cukup untuk mengendalikan infeksi vagina yang berhubungan dengan *biofilm*. Kemajuan jaman dan penelitian yang gencar dilakukan menemukan pentingnya terapi adjuvan yang diberikan bersama dengan antibiotik yang bersifat bakteristatik ataupun bakteriosidal. Dengan mempertimbangkan interaksi yang kompleks dari berbagai macam spesies *biofilm*, maka penggunaan terapi kombinasi dapat memberikan harapan yang besar untuk dapat mencegah rekurensi dan relapse yang saat ini masih sering terjadi.

KEPUSTAKAAN

1. Murtiastutik D. Infeksi Menular Seksual Surabaya: Airlangga University Press; 2008. Hal 5-7.
2. Rabin N , Zheng Y , Temeng CO , Du Y , Bonsu E , Sintim HO. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. Future Med Chem 2015; 7(4):493-512.
3. Muzny CA , Schwebke JR. Biofilm: A underappreciated mechanism of treatment failure and recurrence in vaginal infections. CID 2015; 61(4):601-6.
4. Arciola CR , Campoccia D , Ravaoli S , Montanaro L. Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. Front Cell Infect Microbiol 2015; 5(7):1-10.
5. Das T , Sharma PK , Busscher HJ , Mei HC , Krom BP. Role of extracellular DNA in initial bacterial adhesion and surface aggregation. Appl Environ Microbiol 2010; 76(10):3405-8.
6. Gloag ES , Turnbull L , Huang A , Valloton P , Wang H , Nolan LM , et al. Self organization of bacterial biofilm is facilitated by extraellular DNA. Proc Natl Acad Sci 2013; 110(28):11541-6.
7. Renner LD , Weibel DB. Physiochemical regulation of biofilm formation. MRS Bull 2011; 36(5):347-55.
8. Wu H , Moser C , Wang HZ , Hoiby N , Song ZJ. Strategies for combating bacterial biofilm infections. International Journal of Oral Science 2015; 7:1-7.
9. Anderl JN , Franklin MJ , Stewart PS. Role of antibiotic penetration limitation in Klebsiella pneumoniae biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44(7):1818-24.
10. Savage VJ , Chopra I , O'Neil AJ. Staphylococcus aureus biofilm promote horizontal transfer of antibiotic resistance. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(4):1968-70.
11. Daili SF , Makes WI , Zulfier F. Infeksi Menular Seksual Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2009.
12. Swidsinski A , Mendling W , Baucke VL , Ladhoff A , Swidsinski S , Hale L , et al. Adherent biofilm in bacterial vaginosis. Obstet Gynecol 2005; 106:1013-23.
13. Brotman RM. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. J Clin Invest 2011; 121(12):4610-7.
14. Livengood CH. An overview for 2009. Rev Obstet Gynecol 2009; 2(1):28-37.

15. Machado D , Castro J , Oliveira P , Oliveira JM , Cerca N. Bacterial Vaginosis Biofilm: Challenges to Current Therapies and Emerging Solutions. *Front Microbiol* 2016; 6:1528
16. Prevention CfDca. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2014 Atlanta; 2015.
17. Verstraelen H , Swidsinski A. The biofilm in bacterial vaginosis: implications for epidemiology, diagnosis and treatment. *Curr Opin Infect Dis* 2013; 26(1):86-9.
18. Swidsinski A , Doerffel Y , Baucke VL , Swidsinski S , Verstraelen H , Vaneechoutte M, et al. Gardnerella biofilm involves females and males and is transmitted sexually. *Gynecol Obstet Invest* 2010; 70:256-63.
19. Bahamondes MV , Portugal PM , Brolazo EM , Simoes JA , Bahamondes L. Use of a lactic acid plus lactoserum intimate liquid soap for external hygiene in the prevention of bacterial vaginosis recurrence after metronidazole oral treatment. *Rev Assoc Med Bras* 2011; 57:415-20.
20. Vuotto C , Longo F , Donelli G. Probiotics to counteract biofilm associated infections: promising and conflicting data. *Int J Oral Sci* 2014; 6:189-94.
21. Oliveira PA , Silva BM , Oliveira PR , Oliveira MJ , Salgueiro L. Are plant extracts a potential therapeutic approach for genital infection? *Curr Med Chem* 2013; 20:2914-28.
22. Rabin N , Zheng Y , Temeng CO , Du Y , Bonsu E , Sintim HO. Agents that inhibit bacterial biofilm formation. *Future Med Chem* 2015; 7(5):647-71.
23. Krasnopolsky VN , Prilepskaya VN , Polatti F , Zarochentseva NV , Bayramovab GR, Caserinid M , et al. Efficacy of vitamin C vaginal tablets as prophylaxis for recurrent bacterial vaginosis? a randomised. *J Clin Med Res* 2013; 5:309-15.
24. Hymes SR , Randis TM , Sun TY , Ratner AJ. DNase inhibits Gardnerella vaginalis biofilm in vitro and in vivo. *J Infect Dis* 2013; 207:1491-7.