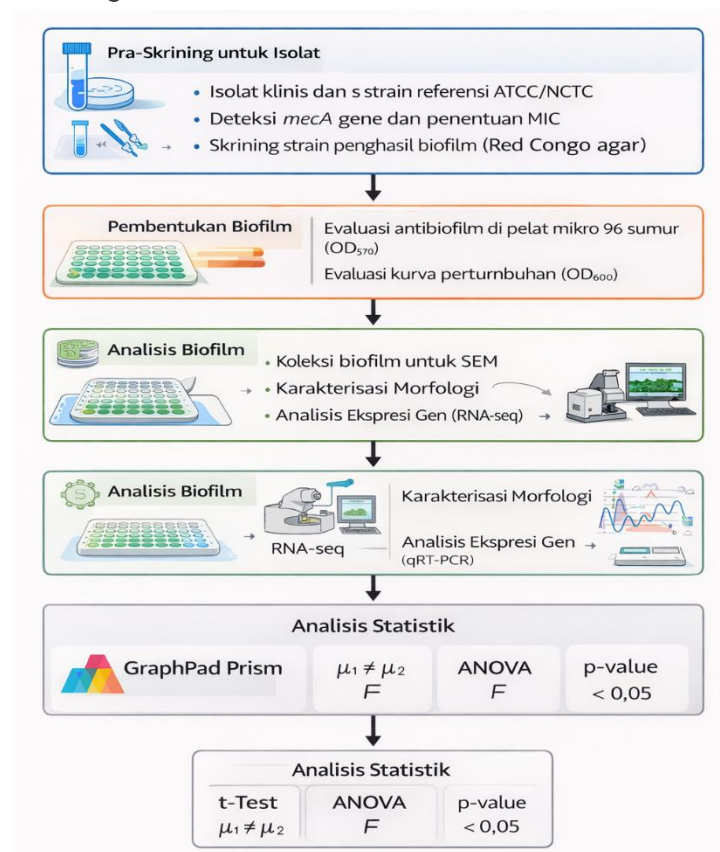


Transcriptomic Analysis of the Effect of Glabridin on Biofilm Formation in *Staphylococcus aureus*

Resistensi antibiotik merupakan masalah global yang terus meningkat, terutama pada *Staphylococcus aureus* akibat penggunaan antibiotik yang tidak rasional. Salah satu mekanisme utama resistensi *S. aureus* adalah pembentukan biofilm yang melindungi bakteri dari antibiotik dan respons imun inang, dengan *extracellular* DNA (eDNA) sebagai komponen struktural penting (Araújo *et al.*, 2024). Pembentukan biofilm diatur oleh sistem *quorum sensing* seperti *accessory gene regulator* (*agr*) yang berperan dalam regulasi virulensi dan resistensi antimikroba (Oliviera *et al.*, 2021). Biofilm juga berkontribusi terhadap kegagalan terapi dan komplikasi infeksi (Xiu *et al.*, 2020). Dalam konteks pencarian alternatif antimikroba, glabridin dari *Glycyrrhiza glabra* diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri resisten (Suwannakul & Chaibenjwong, 2017; Fu *et al.*, 2023). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek glabridin terhadap pembentukan biofilm *S. aureus* serta perannya dalam mengatasi resistensi yang dimediasi oleh biofilm.

Metode

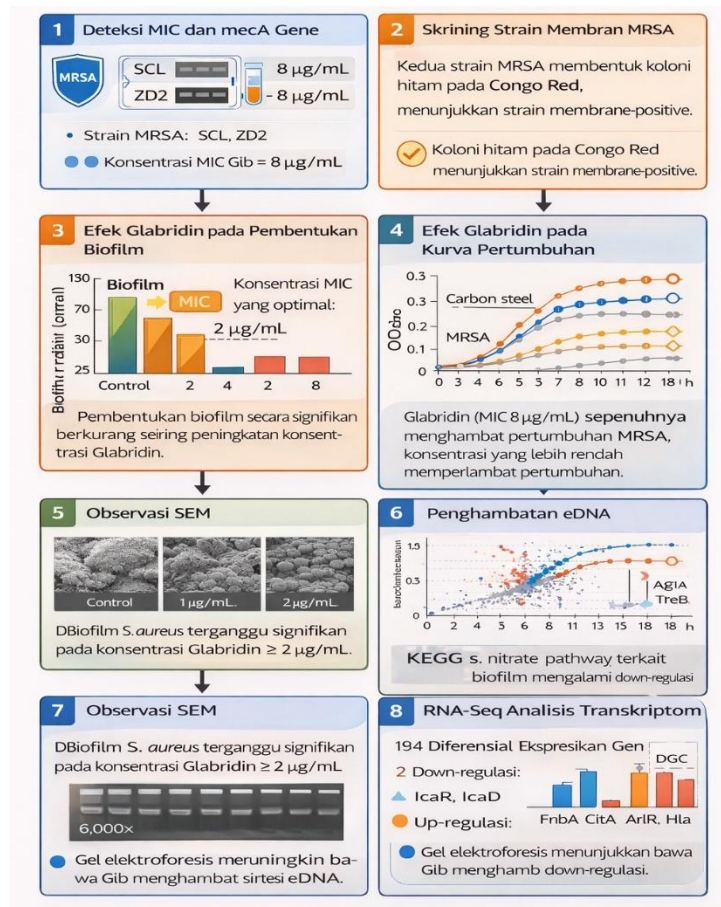
Metode diilustrasikan melalui gambar berikut.



Gambar 1. Metode

Hasil

1. Detection of MIC and *mecA* gene of *S. aureus* clinical isolates
Gen *mecA* terdeteksi pada isolat klinis SCL dan ZD2. Konsentrasi MIC dari Glb yang digunakan adalah 8ug/mL untuk kedua strain.
2. Qualitative screening of MRSA membrane-producing strains
SCL dan ZD2 membentuk warna hitam pekat pada agar Congo Red.
3. Effect of Glb on biofilm formation by *S. aureus*
Pertumbuhan bakteri MRSA sepenuhnya terhambat pada konsentrasi Glb 8ug/mL, pada konsentrasi 4 ug/mL hampir separuh pembentukan biofilm berkurang. Pembentukan biofilm berkurang seiring dengan penambahan konsentrasi Glb.
4. Effect of Glb on the growth of *S. aureus* strains
Konsentrasi Glb sebesar 8 ug/mL menghambat pertumbuhan *S. aureus* seluruhnya. Strain MRSA menunjukkan aktivitas antimikrobal lebih kuat dibandingkan strain senitif pada konsentrasi Glb 4 ug/mL.
5. SEM observation
Observasi SEM menunjukkan bahwa perlakuan Glb menyebabkan perubahan morfologi dan kerusakan struktur sel *S. aureus* secara bertahap sesuai peningkatan konsentrasi. Pengamatan perbesaran tinggi (20.000×) mengonfirmasi bahwa Glb pada konsentrasi 2–4 µg/mL secara signifikan menghambat penempelan sel dan menurunkan pembentukan biofilm secara bergantung dosis.
6. Inhibition of eDNA by Glb
Eksresi eDNA diamati menggunakan elektroforesis gel dan menunjukkan Glb memiliki efek signifikan dalam menghambat sintesis eDNA dibandingkan dengan kontrol.
7. Transcriptome sequencing analysis
Analisis RNA-seq menunjukkan bahwa perlakuan Glb menghasilkan 184 gen terdiferensiasi, terdiri atas 81 gen ter-upregulasi dan 103 gen ter-downregulasi.
8. RT-PCR Validation
Eksresi *icaR* dan *icaD* mengalami penurunan, sementara ekspresi gen adhesin permukaan mengalami peningkatan (*FnbA*, *ClfA*, *ArlR*, dan *Hla*).



Gambar 2. Hasil

Diskusi

- Glabridin (Glb) secara signifikan menghambat pembentukan biofilm MRSA, dibuktikan melalui uji crystal violet dan analisis SEM.
- Pertumbuhan MRSA lebih terhambat dibandingkan non-MRSA, menunjukkan keterkaitan antara resistensi antibiotik dan kemampuan pembentukan biofilm.
- Glb menurunkan ekspresi gen kunci biofilm (*icaD*) dan produksi PIA, yang berperan penting dalam stabilitas matriks biofilm.
- Analisis transkriptomik dan qRT-PCR menunjukkan Glb memodulasi regulator transkripsional biofilm, termasuk SarA dan protein adhesi permukaan (*FnbA*, *ClfA*).
- Glb mengganggu jalur metabolisme utama, termasuk metabolisme gula (sukrosa, alginat, fruktosa) dan respirasi nitrat yang penting untuk pembentukan biofilm.
- Aktivasi sistem dua komponen Agr (*AgrC/AgrA*) oleh Glb mengindikasikan keterlibatan mekanisme regulasi virulensi dalam penghambatan biofilm.

Kesimpulan

- Glb memengaruhi pembentukan biofilm dengan menghambat sekresi eDNA.
- Glb memengaruhi penempelan dan efek antibiofilm pada *S. aureus* dan menawarkan dasar teoritis untuk mengembangkan senyawa alami sebagai anti-infeksi dan mengatasi resistensi obat.

Referensi

- Araújo, N. J. S., Bezerra, V. L., Costa, M. D. S., Da Silva, C. a. P., Da Silva, A. R. P., De Sousa Freitas, D. G., Santos, J. S. D., Soares, J. B., & Andrade-Pinheiro, J. C. (2024). *Staphylococcus aureus* Biofilms: Characteristics and Impacts on the Treatment of Infectious Diseases. In IntechOpen eBooks. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1007304>
- Fu, J., Liu, Y., Wang, F., Zong, G., Wang, Z., Zhong, C., & Cao, G. (2023). Glabridin inhibited the spread of polymyxin-resistant *Enterobacterium* carrying ICEMmoMP63. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1188900. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1188900>
- Oliveira D, Borges A, Rm R, Negrín ZR, Distinto S, Borges F, et al. 2-(2-Methyl-2-nitrovinyl)furan but not furvina interfere with *Staphylococcus aureus* Agr quorum-sensing system and potentiate the action of fusidic acid against biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22:613. DOI: 10.3390/ijms22020613
- Periasamy S, Joo HS, Duong AC, Bach THL, Tan VY, Chatterjee SS, et al. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. *National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012; 109:1281-1286. DOI: 10.1073/pnas.1115006109
- Suwannakul, S., & Chaibenjawong, P. (2017). *Antibacterial activities of Glycyrrhiza gabra Linn. (licorice) root extract against Porphyromonas gingivalis and its inhibitory effects on cysteine proteases and biofilms. Journal of Dentistry Indonesia*, 24(3), 85–92. <https://doi.org/10.14693/jdi.v24i3.1075>
- Xiu W, Shan J, Yang K, Xiao H, Yumen L, Wang L. Recent development of nanomedicine for the treatment of bacterial biofilm infections. *Viewpoints*. 2020; 2:1-23. DOI: 10.1002/VIW.20200065