

**PENGARUH EKSTRAK *Alpinia galanga* L TERHADAP PRODUKSI BIOFILM  
PADA *Staphylococcus aureus***

**LAPORAN PENELITIAN**



**Oleh :**

**Didik Wahyudi, S.Si, M.Si**

**NIDN: 0626127502.**

**PUSAT PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT  
AKADEMI ANALIS KESEHATAN NASIONAL SURAKARTA  
JUNI 2012**

**PENGARUH EKSTRAK *Alpinia galanga* L TERHADAP PRODUKSI BIOFILM  
PADA *Staphylococcus aureus***

LAPORAN PENELITIAN

**LAPORAN PENELITIAN**



**Oleh :**

**Didik Wahyudi, S.Si, M.Si**

**NIDN: 0626127502.**

**PUSAT PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT  
AKADEMI ANALIS KESEHATAN NASIONAL SURAKARTA  
JUNI 2012**

## HALAMAN PENGESAHAN


Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak *Alpinia galanga* L Terhadap Produksi Biofilm pada *Staphylococcus aureus*.  
Peneliti / Pelaksana : Didik Wahyudi, S.Si, M.Si.  
NIDN : 0626127502.  
Jabatan Fungsional : Asisten Ahli.  
Program Studi : D3 Analis Kesehatan.  
Email : [didikww@gmail.com](mailto:didikww@gmail.com).  
No Telepon : 08121548036.  
Unit Kerja : Akademi Analis Kesehatan Nasional Surakarta.  
Alamat : Jl. Yos Sudarso. No 338 Dawung Surakarta 57155.  
Waktu Pelaksanaan : Februari – Juni 2012.  
Sumber Biaya : AAK Nasional Surakarta dan Peneliti.

Surakarta, 21 Juni 2012.



Ketua Pusat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat,

Peneliti,

  
dr. Cisillia Adhiyani, M. Kes.

  
Didik Wahyudi, S.Si, M.Si.

Mengetahui,  
Direktur AAK Nasional Surakarta,



  
  
Didik Wahyudi, S.Si, M.Si.

## HALAMAN PENGESAHAN PERPUSTAKAAN

**Judul Penelitian** : Pengaruh Ekstrak *Alpinia galanga* L Terhadap Produksi Biofilm pada *Staphylococcus aureus*.  
**Peneliti / Pelaksana** : Didik Wahyudi, S.Si, M.Si.  
**NIDN** : 0626127502.  
**Jabatan Fungsional** : Asisten Ahli.  
**Program Studi** : D3 Analis Kesehatan.  
**Email** : [didikww@gmail.com](mailto:didikww@gmail.com).  
**No Telepon** : 08121548036.  
**Unit Kerja** : Akademi Analis Kesehatan Nasional Surakarta.  
**Alamat** : Jl. Yos Sudarso. No 338 Dawung Surakarta 57155.  
**Waktu Pelaksanaan** : Februari – Juni 2012.  
**Sumber Biaya** : AAK Nasional Surakarta dan Peneliti.

Telah diterima dan disimpan sebagai literatur hasil penelitian di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

Surakarta, 28 Mei 2020  
Kepala Perpustakaan STIKES Nasional

  
Perpustakaan  
STIKES NASIONAL  
  
Ferry Adityo Putro, S.A.P., M.L.P.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN PERPUTAKAAN	iii
DAFTAR ISI	iv
INTISARI	v
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. <i>Staphylococcus aureus</i>	5
B. Pembentukan Biofilm <i>Staphylococcus aureus</i> .	8
C. Lengkuas ( <i>Alpinia galangal</i> )	10
D. Hipotesis	13
BAB III. METODE PENELITIAN	14
A. Tempat dan Waktu Penelitian	14
B. Alat dan Bahan Penelitian.	14
C. Rancangan Penelitian	15
D. Prosedur Penelitian.	16
1. Ekstrasi <i>Alpinia galangal</i> L.	16
2. Isolasi Bakteri Uji.	16
3. Uji Pembentukan Biofilm <i>Staphylococcus aureus</i>	18
E. Analisis Statistik.	19
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN.	21
A. Karakteristik Bakteri Uji, <i>Staphylococcus aureus</i>	21
B. Pembentukan biofilm dengan <i>Microtiter plate</i> .	24
BAB. V. SIMPULAN DAN SARAN.	29
DAFTAR PUSTAKA	30

**PENGARUH EKSTRAK *Alpinia galanga* L TERHADAP PRODUKSI BIOFILM  
PADA *Staphylococcus aureus***

Oleh :

Didik Wahyudi (Akademi Analisis Kesehatan Nasional Surakarta).

**INTISARI**

Biofilm merupakan sel-sel bakteri yang membentuk ikatan yang kuat antar sel, menciptakan lingkungan eksklusif, dan menyebabkan perubahan sifat dari bakteri tersebut, biofilm melekat pada substrat dan jaringan, pada beberapa kasus klinis sering ditemukan menjadi penyebab kerusakan jaringan dan memicu kejadian kasus resistensi terhadap antibiotik. *Staphylococcus aureus* dalam beberapa kasus klinis sering ditemukan membentuk biofilm dan tingkat resisten terhadap antibiotik semakin meningkat. Ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga* L) memiliki kandungan apigenin mampu menghambat pembentukan biofilm. Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga* L) dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini diawali dengan ekstraksi rimpang lengkuas dengan etanol menggunakan metode maserasi, kemudian dibuat konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%. *Staphylococcus aureus* diisolasi dari pus pasien. kemudian dilakukan karakterisasi fisiologisnya dan uji sensitifitas antibiotik. Uji penghambatan biofilm *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode *microtiter plate clorida* dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595nm, Hasil pengukuran produksi biofilm berupa besarnya nilai Optical Density *crystal violet*, setiap perlakuan menggunakan ulangan tiga kali, data yang didapatkan dianalisis dengan *One Way Anova*. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa Ekstrak *Alpinia galanga* L mampu menghambat produksi biofilm *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 15%.

**Kata Kunci :** Biofilm, *Staphylococcus aureus*, *Alpinia galanga* L.

## **BAB. I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang.**

*Staphylococcus aureus* merupakan patogen oportunistik yang sering menyebabkan infeksi di berbagai bagian tubuh. *Staphylococcus aureus* merupakan mikroflora normal tubuh, bakteri ini menyebabkan infeksi pada manusia dan menyebabkan keracunan makanan. Di Indonesia angka kejadian penyakit infeksi masih cukup tinggi, prevalensi atau angka kejadian penyakit infeksi di Indonesia 450 – 830 kasus per 1000 penduduk atau kurang lebih 637.000 – 1,52 juta kasus setiap tahun dan 72 – 91 % nya adalah anak berusia 2 – 19 tahun. (DepKes, 2009)

Beberapa kasus Infeksi *Staphylococcus aureus* sering terjadi dan banyak ditemukan kasus resistensi terhadap beberapa antibiotik di beberapa wilayah di Indonesia. Kejadian resistensi kuman *Staphylococcus sp* mengalami peningkatan sejumlah 35 – 65 % selama 3 tahun terakhir (2009 – 2012). Kasus resistensi bakteri tersebut disebabkan oleh banyak hal, antara lain ketidaktaatan minum obat antibiotik, mutasi bakteri, keasalahan dalam perilaku pengobatan oleh tenaga medis. Salah satu penyebab resistensi bakteri adalah karena membentuk biofilm dalam jaringan, sehingga sulit ditembus oleh beberapa antibiotik (KemenKes, 2012).

Biofilm bakteri adalah sebuah komunitas bakteri yang satu spesies maupun beberapa spesies yang berada dalam satusubstrat atau jaringan. 72% bakteri penyebab penyakit infeksi mengalami resistensi terhadap antibiotik dan lebih dari 50% kasus resistensi bakteri disebabkan karena pembentukan biofilm dalam

jaringan tubuh (Rasmussen, 2005). Ketika *Staphylococcus aureus* yang berada dalam jaringan berinteraksi dengan bakteri sejenis ataupun jenis lain yang bisa saling bekerja sama menyebabkan infeksi yang semakin parah. Bakteri-bakteri tersebut akan berkolonisasi membentuk biofilm, dan pada kondisi tersebut maka akan sulit dimatikan dengan berbagai jenis antibiotik. (Fuqua, 1997).

Menurut Rukayadi dan Hwang (2009) pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dikendalikan oleh sistem *quorum sensing*, sistem *quorum sensing* merupakan suatu proses pelepasan molekul sinyal antara bakteri, ketika jumlahnya di dalam lingkungan (jaringan) sudah mencukupi maka bakteri akan mengeluarkan faktor virulensi, setelah mengeluarkan faktor virulensi, apabila bakteri masih terus berkolonisasi maka akan membentuk biofilm yang bisa menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotik (Mustika, 2009). Menurut data Departemen Kesehatan RI kejadian resistensi bakteri Gram Positif (terutama *Staphylococcus aureus*) mengalami peningkatan 10 – 25% dari tahun 2008 sampai 2011. Infeksi *Staphylococcus aureus* sulit untuk dimusnahkan dengan antibiotik, dan perlu adanya alternatif pemikiran dan tindakan baru untuk mengatasi infeksi bakteri. (Janssens, 2008).

Potensi tanaman obat Indonesia sebagai penghambat sistem *quorum sensing* belum banyak diteliti, beberapa telah diketahui memiliki kemampuan yang bervariasi dalam penghambatan sistem *quorum sensing* baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Hal tersebut akan membuka kesempatan yang masih sangat luas untuk dilakukan penelitian guna menemukan beberapa hal yang baru yang berhubungan dengan sistem komunikasi antar mikroorganisme.



Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kemampuan penghambatan sistem *quorum sensing* pada ekstrak *Alpinia galanga* L (lengkuas) dan beberapa jenis rimpang yang lain terhadap beberapa bakteri, antara lain Fuqua *et al.*, (1997) yang meneliti tentang sistem pengaturan ekspresi gen pada mikroorganisme melalui sistem *quorum sensing*. Rukayadi *et al.*, (2006) meneliti tentang penghambatan produksi faktor virulensi *P. aeruginosa* oleh tanaman vanili. Magdalena dan Yogiara (2006) yang meneliti tentang kemampuan lengkuas dalam menghambat produksi biofilm pada *Streptococcus mutan* penyebab plaq pada gigi. *Alpinia galanga* L telah diketahui mempunyai kemampuan menghambat sistem *quorum sensing* pada bakteri, namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Berdasarkan pemikiran diatas maka penulis melakukan penelitian tentang Pengaruh Esktrak *Alipinia galanga* L terhadap produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus*.

#### **B. Rumusan Masalah.**

1. Apakah ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga* L) mampu menghambat produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus* ?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak lengkuas yang mampu menghambat produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus* ?

#### **C. Tujuan Penelitian.**

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui kemampuan *Staphylococcus aureus* dalam memproduksi biofilm secara invitro.

2. Mengetahui kemampuan ekstrak lengkuas dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*.
3. Mengetahui konsentrasi ekstrak lengkuas yang mampu menghambat produksi biofilm *Staphylococcus aureus*.
4. Sebagai wacana untuk penelitian selanjutnya, untuk isolasi zat aktif yang memiliki kemampuan menghambat produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus* dan beberapa bakteri penyebab penyakit infeksi lainnya, yang telah diketahui resisten terhadap antibiotik.

#### **D. Manfaat Penelitian.**

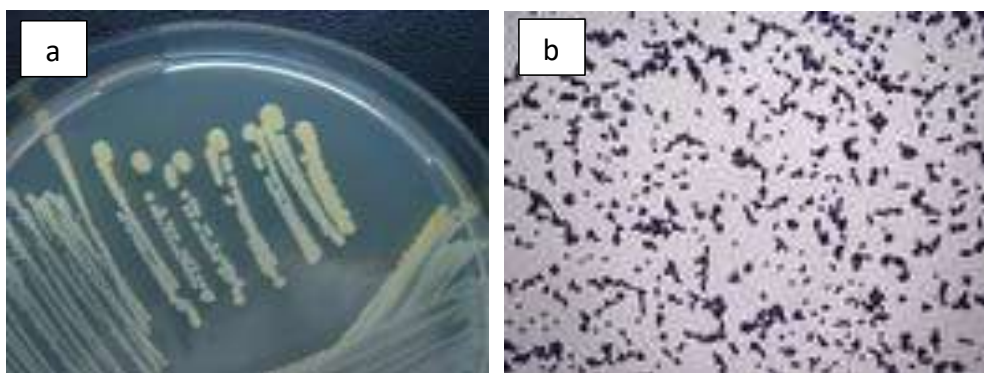
1. Mendapatkan informasi ilmiah mengenai sistem produksi dan penghambatan biofilm pada *Staphylococcus aureus* dengan ekstrak lengkuas.
2. Menambah kajian ilmiah mengenai pemanfaatan tanaman lengkuas sebagai alternatif obat penyembuhan penyakit infeksi.
3. Sebagai acuan awal untuk isolasi zat aktif yang berperan dalam penghambatan produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk coccus, dari ordo Eubacteriales, familia Micrococaceae, dengan diameter sekitar 1  $\mu\text{m}$  dan tersusun dalam kelompok-kelompok tidak beraturan. Bakteri ini tidak bergerak, tidak membentuk spora, dan bersifat Gram positif pada pengecatan Gram. Tumbuh dengan baik dalam suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C, namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah temperatur kamar (20-35°C). Koloni pada perbenihan padat berbentuk bundar, halus, menonjol, dan mengkilat. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen warna kuning emas (Jawetz *et al.*, 2008).



**Gambar 1.** *Staphylococcus aureus*, koloni (a), dan sel mikroskopis (b).

*Staphylococcus aureus* mengandung antigen berupa protein karbohidrat. Polisakarida A merupakan komponen dinding sel dari *Staphylococcus sp* yang

ganas. Antibodi yang ditimbulkan tidak menyebabkan reaksi aglutinasi sehingga fagositosis menjadi lebih efektif. Polisakarida B merupakan komponen dinding sel dari *Staphylococcus sp* yang tidak ganas (Todar, 2008).

Protein antigen A pada *S. aureus* dapat dikeluarkan oleh dinding sel karena daya kerja DNA-ase dan dapat dirusak oleh trypsin atau chemotrypsin. Poliglycorophosphate dapat berdifusi dari sel bakteri dengan sifat heterofil eritrosit *sensitizing antigen*. Antigen permukaan (materi kapsul) antigen ini berfungsi untuk memecah fagositosis, memecah reaksi koagulase, serta mencegah melekatnya bakteriofage (Brady *et al.*, 2011). *Staphylococcus* menghasilkan enzim katalase, yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Tes ini digunakan untuk membedakan antara *Staphylococcus sp* dengan *Sreptococcus sp*. Jika tes katalase ini positif ditandai dengan terbentuknya gelembung gas, hal ini terjadi pada *Staphylococcus sp*. Sedangkan pada tes katalase negatif tidak terbentuk gelembung gas, hal ini terdapat pada *Sreptococcus sp* (Jawetz *et al.*, 2008).

Enzim koagulase yang diproduksi oleh *Staphylococcus aureus* dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat karena faktor koagulase reaktif di dalam serum. Faktor ini bereaksi dengan koagulase dan menghasilkan suatu esterase yang dapat membangkitkan aktivitas penggumpalan, sehingga terjadi deposit fibrin pada permukaan sel kuman yang dapat menghambat fagositosis (Djordjevic *et al.*, 2002). Tes koagulase tersebut penting untuk menentukan patogenitas *Staphylococcus sp*. *Staphylococcus aureus* memberikan tes koagulase positif, yang ditandai dengan terjadinya aglutinasi. Enzim hyaluronidase dihasilkan oleh jenis koagulase positif. Penyebaran kuman dipermudah dengan adanya enzim ini, oleh karena itu enzim ini juga disebut sebagai *spreading faktor*.

Fibrinolisin dapat melisiskan bekuan darah dalam pembuluh darah yang sedang meradang, sehingga bagian-bagian dari bekuan yang penuh kuman terlepas dan menyebabkan terjadinya lesi metastatik di lain tempat. Gelatinase dan Protease merupakan enzim yang dapat mencairkan gelatin. Protease dapat melunakkan serum yang telah diinspisasikan sehingga dapat menimbulkan nekrosis jaringan (Wijiono, 2009).

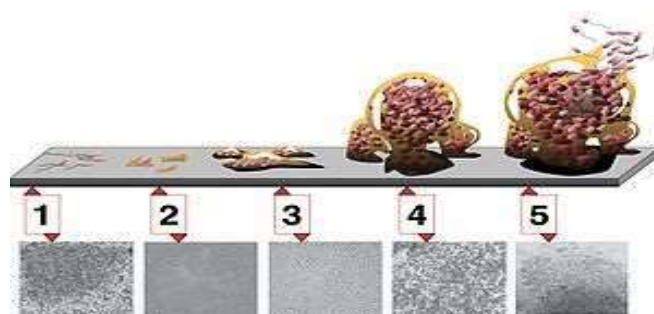
*Staphylococcus aureus* bersifat invasif, penyebaran hemolisis, membentuk koagulase, mencairkan gelatin, membentuk pigmen kuning emas, dan meragi manitol. Beberapa manifestasi klinis dari *Staphylococcus aureus*, Sindrom Syok Toksik (SST), timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam bentuk skarlatina, dan hipotensi dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. Terutama timbul pada wanita yang mengalami menstruasi dan berhubungan dengan pemakaian tampon (Jawetz *et al.*, 2008). *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSSS) merupakan penyakit kulit yang disebabkan oleh eksotoksin atau protein ekstraselular *Staphylococcus sp.* Penyakit ini terutama terjadi pada anak-anak yang berusia di bawah 5 tahun, neonatus, dan infeksi pada pria terjadi lebih banyak daripada wanita. SSSS memberi gejala demam tinggi disertai infeksi di saluran nafas bagian atas. Kelainan kulit awal berupa eritema yang timbul mendadak pada muka, leher, ketiak, telapak tangan, kaki, serta lipat paha, kemudian di daerah tersebut akan terjadi pengelupasan sehingga tampak daerah-daerah erusif (Borucki *et al.*, 2008).

Toxemia, merupakan Infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* yang masuk ke dalam aliran darah. Infeksi ini mengakibatkan luka di sekitar hidung dan mulut. Sindrom kulit ini sering terjadi pada anak-anak yang berusia di bawah 8

tahun. Sindrom kulit yang berlanjut akan menjadi SST (Suwanto, 2005). Gastroenteritis, biasanya disertai dengan *food poisoning syndrom* atau keracunan makanan, hal ini terjadi jika enterotoksin *Staphylococcus aureus* ini termakan. Gejala-gejalanya ditandai dengan inkubasi pendek (2-6 jam), mual, muntah, diare, bahkan sampai *collaps*. Tetapi penyakit ini dapat sembuh sendiri dan jarang menyebabkan kematian (Listyasari, 2012).

### B. Pembentukan Biofilm *Staphylococcus aureus*.

Biofilm adalah kumpulan sel-sel bakteri yang melekat pada subsrat, jaringan ataupun bahan yang diselimuti oleh lapisan pengikat terdiri dari polisakarida hasil ekskresi sel-sel bakteri, pada kondisi tersebut koloni bakteri bisa menyebabkan kerusakan pada permukaan sel, mukosa, jaringan, ataupun bahan yang dilekatinya (Cue *et al.*, 2009). Ada lima tahap perkembangan biofilm pada bakteri, yaitu 1). initial attachment, 2). irreversible attachment, 3). maturation I, 4). maturation II, 5). dispersion



**Gambar 2. Tahapan perkembangan biofilm (Klaper, 2006).**

Pembentukan biofilm diawali dengan penempelan bakteri pada permukaan melalui ikatan Van der Waals, elektrostatis, ikatan hidrogen, atau

Brownian. Selanjutnya diperkuat dengan produksi EPS, penempelan tersebut bersifat irreversible. Jika tidak ada tekanan fisik dan kimiawi, Selanjutnya terjadi pembelahan sel dan bergabungnya bakteri planktonik sehingga menghasilkan pertumbuhan dan perkembangan komunitas biofilm. Tahap ini disebut sebagai pematangan dan maturasi biofilm. (Anderson 2009).

Ikatan antara sel bakteri sangat kuat karena adanya matrik *glyococalyx*, exopolymer polisakarida dan beberapa karbohidrat yaitu sukrosa atau fruktosa, yang menyebabkan masing-masing sel terikat kuat dan menyebabkan perlekatan yang sifatnya irreversible (Kristian *et al*, 2004).

Produksi matriks ekstraseluler diperukan dalam pembentukan biofilm. Matriks biofilm umumnya terdiri dari 97% air, 2-5% sel mikroba, 3-6% substansi polimer ekstraseluler (Extracellular Polymeric Substances /EPS) dan ion-ion. EPS umumnya terdiri dari 40-95% polisakarida, 1-60% protein, 1-10% asam nukleat dan 1-40% lipid. Komposisi EPS ini bervariasi, tergantung pada komposisi dalam konsorsia mikrobial dan kondisi lingkungan (Andersson, 2009).

Pembentukan biofilm memberikan beberapa keuntungan. Sel bakteri dalam komunitas saling berinteraksi dan beragregasi secara kuat membentuk biofilm pada permukaan sedimen. Komunitas tersebut merupakan bentuk kerjasama organisme teradaptasi yang memungkinkan pemanfaatan sumber daya lingkungan secara efisien dan menghasilkan lingkungan mikro yang sesuai dalam lingkungan makro yang tidak sesuai (Davey dan O'Toole, 2000).

Kelebihan lain dari biofilm adalah matriks biofilm dapat menjadi barrier fisik bagi sel bakteri dari bahan antimikrobia dan tekanan lingkungan.

Keuntungan ekologis lain dari biofilm yaitu adanya kerjasama metabolik, adanya microniche, dan transfer gen. Kerjasama metabolik lebih lanjut dapat meningkatkan degradasi bahan organik. Microniche dengan berbagai konsentrasi nutrisi dan oksigen akan memberikan kondisi yang menguntungkan bagi beragam spesies bakteri, sedangkan transfer gen dapat meningkatkan perlindungan atau resistensi terhadap antibiotik atau bahan toksik lain, dengan membentuk biofilm maka bakteri mampu bertahan terhadap lingkungan ekstrem yang membahayakan bakteri tersebut. (Cerca dkk, 2005; Andersson 2009).

Pengendalian produksi biofilm pada beberapa bakteri telah dilakukan melalui beberapa penelitian antara lain dengan menghambatnya dengan menggunakan beberapa ekstrak bahan alam (Rukayadi *et al*, 2006;; Rukayadi dan Hwang, 2009; Wijiyono, 2008, Wahyudi dkk, 2011, Listyasari, 2011)

### **C. Lengkuas (*Alpinia galanga* L).**

Nama Lokal Greater galingale (Inggris), Lengkuas (Indonesia); Laos (Jawa), Laja (Sunda) Lengkuas (*Lenguas galanga* atau *A. galanga*) sering dipakai oleh kaum wanita dikenal sebagai penyedap masakan. Lengkuas termasuk terna tumbuhan tegak yang tinggi batangnya mencapai 2-2,5 meter. Lengkuas dapat hidup di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi, lebih kurang 1200 meter di atas permukaan laut (Aree *et al.*, 2003).





**Gambar 3.** *Alpinia galanga* L (Sinaga, 2004).

Ada 2 jenis tumbuhan lengkuas yang dikenal yaitu varietas dengan rimpang umbi (akar) berwarna putih dan varietas berimpang umbi merah. Lengkuas berimpang umbi putih dipakai penyedap masakan, sedang lengkuas berimpang umbi merah digunakan sebagai obat. Lengkuas mempunyai batang pohon yang terdiri dari susunan pelepah-pelepah daun. Daun-daunnya berbentuk bulat panjang dan antara daun yang terdapat pada bagian bawah terdiri dari pelepah-pelepah saja, sedangkan bagian atas batang terdiri dari pelepah-pelepah lengkap dengan helaian daun. Bunganya muncul pada bagian ujung tumbuhan. Rimpang umbi lengkuas selain berserat kasar juga mempunyai aroma yang khas (Sinaga, 2004) (Gambar 2).

Di banyak Negara Asia, rimpang lengkuas digunakan sebagai bumbu masak. Lengkuas juga banyak dimanfaatkan sebagai obat karena lengkuas memiliki sifat anti fungi, anti tumor, analgenikum, dan anti kembung. Lengkuas biasanya digunakan sebagai obat penyakit kulit, sakit perut, radang tenggorokan, diare, sariawan, dan herpes (Sinaga 2000). Aree *et al.* (2005) menyatakan bahwa ekstrak lengkuas yang larut etanol mengandung komponen *asetokavikol asetat p-coumaril siasetat, asam*

*palmitat, eugenol, asetosiugenol asetat, bisabolene, farnesen, dan eskuifelandren* yang merupakan komponen terpenoid. Lengkuas juga mengandung komponen fenolik, ester asam lemah, asam lemak, terpen, dan lain-lain.

Menurut Catherine (2002), berdasarkan tingkatan taksonnya lengkuas diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Super Klas : Angiosperms  
Klas : Monocots  
Order : Zingiberales  
Family : Zingiberaceae  
Tribe : Alpinieae  
Genus : *Alpinia*  
Species : *A. galanga*

Lengkuas muda berumur 3-4 bulan memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi dibandingkan lengkuas tua yang berumur 12 bulan. Aktivitas yang tinggi ini disebabkan komponen larut air pada lengkuas jenis merah yang muda lebih besar dibandingkan pada lengkuas tua. Komponen bioaktif lengkuas yang bersifat larut air adalah golongan senyawa fenolik (Rahayu 1999). Rimpang lengkuas merah dan putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri maupun jamur, pada *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* dengan 0,871 mg/ml dan pada *Bacillus subtilis* dan *Mucor gypseum* dengan 1,741 mg/ml (Perlroth, 2008).

**D. Hipotesis**

1. Ekstrak lengkuas (*Alpinia galangal*) mampu menghambat produksi biofilm *Staphylococcus aureus*.
2. Ekstrak lengkuas (*Alpinia galangal*) mampu menghambat produksi biofilm *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Tempat dan Waktu Penelitian.**

Tempat Penelitian, Pengambilan Sampel *Staphylococcus aureus* dilaksanakan di Rumah Sakit Umum Moewardi di Surakarta. Isolasi dan karakterisasi *Staphylococcus aureus* dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Akademi Analis Kesehatan Nasional Surakarta, Ekstraksi dan Maserasi *Alpinia galanga* L dilaksanakan di Balai Besar Penelitian Tanaman Obat dan Obat tradisional Tawangmangu Jawa tengah, Uji biofilm dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta dilaksanakan pada bulan Februari - Juni 2012.

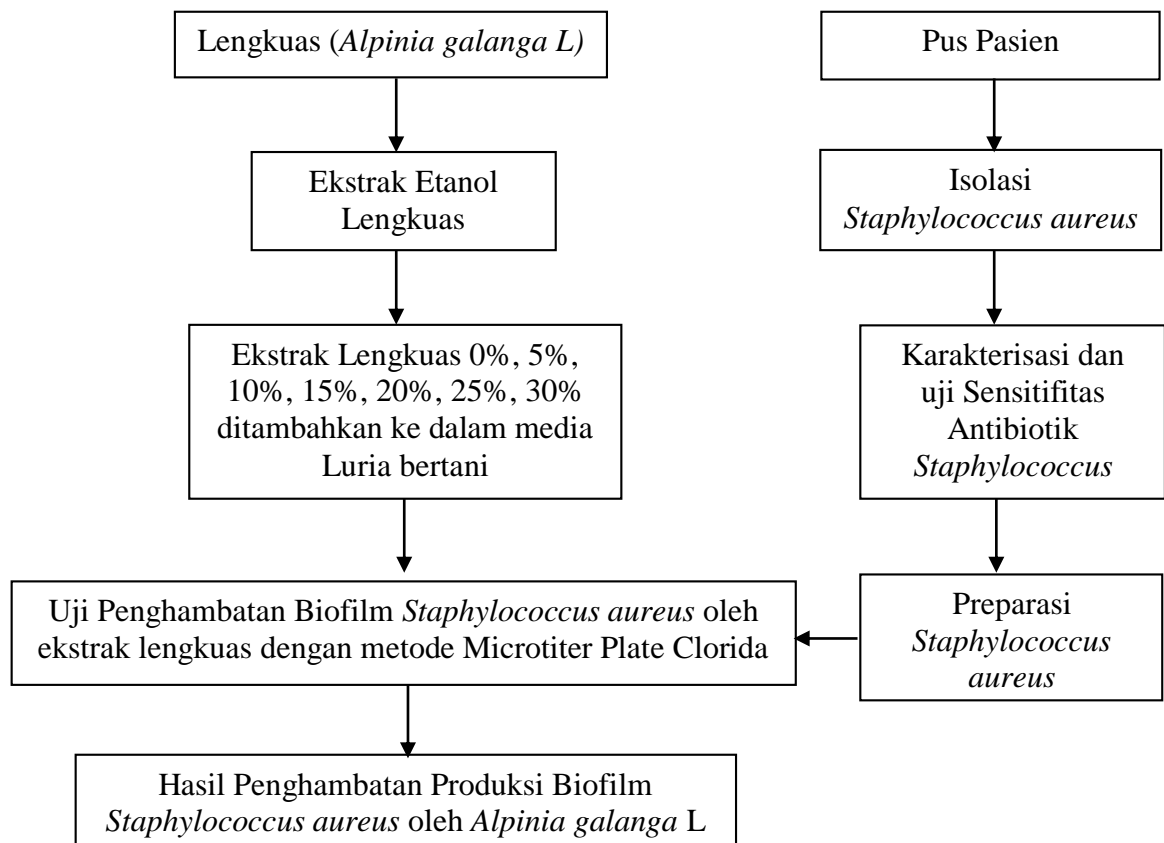
#### **B. Alat dan Bahan Penelitian.**

*Autoclave*, inkubator, *Laminar air flow*, *waterbath*, petridish, jarum ohse, bunsen, lemari es, pH meter, spektrofotometer, kuvet, *shaker*, *sentrifuge*, mikropipet, jangka sorong, timbangan elektrik, Elenmeyer, *bekerglass*, Aluminium foil, *Rotary evaporator*. Tabung biakan kuman, Rak Tabung Reaksi, vortek, kertas saring,

Rimpang *Alpinia galanga* L, Isolat kuman *Staphylococcus aureus* (diisolasi dari Rumah Sakit Dr. Moewardi Surakarta), Medium Luria-Bertani (LB), trichloroacetic acid (TCA), NaOH 0,5 M, buffer fosfat pH 8. Media Trypticase soy broth–0.6% yeast extract (TSBYE), 5% glycerol, Trypticase soy agar (TSA),

*microtiter plate* PVC, Etanol 70%, Hexane, Aquades steril, crystal violet, glukosa 5%. Reagen Pewarnaan Gram lengkap, Cat Gram A, B, C, dan D, *Media Brain Heart Infusion* (BHI), *Blood Agar Plate* (BAP). Reagen Katalase, Plasma citrate, Kaldu Pepton Darah (KPD), Nutrien Agar Miring, Manital Salt Agar (MSA), NaCl 0,9 % steril. Reagen *Erlich*, *Methyl Red* (MR), Ferri Klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 10 %, Kalium Hidroksida (KOH) 40 %, *Barried*,. disk Antibiotik Lengkap.

### C. Rancangan Penelitian.



**Gambar 4.** Rancangan penelitian uji efektifitas ekstrak *Alpinia galanga L* dalam menghambat produksi biofilm *Salmonella typhi*.

## **D. Prosedur Penelitian.**

### **1. Ekstraksi *Alpinia galangal* L.**

*A. galanga* L (Lengkuas) yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis Lengkuas merah besar (Lengkuas yang ada di Indonesia ada 3 kultivar, yaitu : Lengkuas putih, yang biasa digunakan untuk memasak, lengkuas merah kecil dan Lengkuas merah besar), berumur 4 – 5 bulan, yang didapatkan dari Perkebunan Tanaman Obat di Besar Penelitian Tanaman Obat dan Obat tradisional Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Provinsi Jawa Tengah.

Rimpang Lengkuas (*A. galanga* L) yang masih segar sebanyak 1 kg diparut dan dikeringkan pada suhu 50°C selama 5 hari. Setelah kering, 100 g larutan rimpang Lengkuas diekstrak dalam 500 mL etanol 70% selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah disaring, filtrat dievaporasi dengan rotary evaporator (40°C, vakum). Setelah kering ekstrak ditambah 10 mL etanol dan 20 mL heksana. Setelah dikocok, lapisan heksana yang mengandung lemak dibuang. Lapisan etanol dikeringkan sampai menjadi kristal. Ekstrak kering (1 g) dilarutkan dalam larutan etanol 1% (1:100; w/v) (Aree *et al.*, 2006).

### **2. Isolasi Bakteri Uji**

*Staphylococcus aureus* diperoleh dari isolasi dari sampel pus pasien Rumah Sakit

#### **a. Pengambilan Sampel.**

Pengambilan sampel diusapkan kapas lidi steril yang telah dibasahi dengan NaCl 0,9% pada permukaan telapak tangan kanan dan kiri secara aseptis. Kemudian

kapas lidi dimasukkan ke dalam media KPD secara aseptis, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Identifikasi bakteri Uji.

Di buat sediaan langsung dari media KPD, lakukan pengecatan Gram, kemudian periksa di bawah mikroskop dengan menggunakan lensa objektif 100 kali dan ditambah minyak emersi. Interpretasi hasil : Gram (+) ungu, coccus bergerombol. Kemudian diinokulasikan pada media BAP dengan ohse bulat secara aseptis, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati pertumbuhan koloni tersangka pada media BAP, kemudian buat sediaan langsung. Kemudian di lakukan pengecatan Gram dan periksa dibawah mikroskop dengan menggunakan lensa objektif 100 kali dan beri minyak emersi. Interpretasi hasil : Gram (+) ungu, coccus bergerombol. Dilakukan tes katalase dengan cara, di ambil 2-3 ohse NaCl 0,9 % dan letakkan di atas objek glass yang bersih. 2-3 ohse koloni kuman dari media BAP secara aseptis dan campurkan ke atas objek glass yang telah terdapat 2-3 ohse NaCl 0,9 %. Ditambahkan 1 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, dan amati perubahan yang terjadi dengan menggunakan latar belakang hitam. Interpretasi hasil : (+) terjadi gelembung gas, (-) tidak terjadi gelembung gas. Kemudian diinokulasikan koloni kuman dari media BAP ke media NA miring dan MSA menggunakan ohse lurus secara aseptis. Inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Pengamatan pigmen koloni dari media NA miring dan peragian manitol dari media MSA. terdapat pigmen kuning emas pada media NA miring. Media MSA berubah warna menjadi kuning (meragi manitol menjadi asam). diuat sediaan langsung dan lakukan pengecatan Gram dari NA miring. Periksa di bawah mikroskop dengan lensa objektif 100 kali dan beri minyak

emersi. Interpretasi hasil : Gram (+) ungu, coccus bergerombol. Tahapan selanjutnya dilakukan tes koagulase, dengan cara diambil 2-3 ohse NaCl 0,9 % dan letakkan di atas objek glass yang bersih. Kemudian 2-3 ohse koloni kuman dari media NA miring menggunakan ohse lurus secara aseptis dan campurkan ke atas objek glass yang telah terdapat 2-3 ohse NaCl 0,9 %. Di tambahkan 1 tetes Plasma citrat, campur homogenkan. Diamati perubahan yang terjadi. Interpretasi hasil : (+) terjadi aglutinasi, (-) tidak terjadi aglutinasi. Pada tahapan akhir dilakukan uji sensitiftas antibiotik, dengan metode kirby bauer (Perlroth *et al.*, 2008).

### **3. Uji Pembentukan Biofilm dengan *Microtiter Plate*.**

(Djordjevic et al, 2002; Rukayadi dan Hwang, 2006)

Kultur *Staphylococcus aureus* pada media LB segar yang mengandung ekstrak *Alpinia galanga* L pada konsentrasi 0% (sebagai kontrol) 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%, kemudian diinkubasi dalam 10 ml media diperkaya TSBYE, pada suhu 32<sup>0</sup>C semalam. Tes produksi biofilm dilakukan dengan media Luria Bertani. Kultur semalam di TSBYE dipindahkan (0,1 ml) ke 10 ml Luria Bertani dan divortex.

Setelah divortex, 100µl dialihkan ke dalam delapan pelat PVC microtiter (Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, NJ), sebelumnya dibilas dengan 70% etanol dan udara kering. *Plate* tersebut dibuat dalam rangkap dua, diinkubasi, dan ditutup pada 32<sup>0</sup>C selama 20 dan 40 jam. Setiap *plate* termasuk delapan sumur MWB tanpa *Staphylococcus aureus* sebagai kontrol. Kekeruhan sel dipantau



menggunakan pembaca piring microtiter (Bio-Rad, Richmond, Calif), dengan densitas optik 595 nm (OD595), dan dicatat pada interval waktu yang berbeda.

Set *plate* pertama digunakan untuk pembentukan biofilm pengukuran setelah 20 jam, dan duplikat *plate* digunakan untuk menentukan 40 jam pembentukan biofilm. OD rata-rata dari sumur kontrol itu dikurangkan dari OD dari semua tes sumur. Setelah 20 atau 40 jam periode inkubasi, media telah dihilangkan dari sumuran, dan sumur *microtiter plate* dicuci lima kali dengan air suling steril untuk menghilangkan bakteri yang tidak terikat kuat.

*Plate* dikeringkan di udara selama 45 menit dan masing-masing dilakukan pewarnaan dengan 150 µl dari kristal violet 1% larutan dalam air selama 45 menit. Setelah pewarnaan, *plate* yang dicuci dengan air suling steril lima kali. Pada kondisi ini, biofilm yang terlihat sebagai cincin ungu yang terbentuk di sisi masing-masing dengan baik. Analisis kuantitatif produksi biofilm dilakukan dengan menambahkan 200 µl dari 95% etanol ke dalam sumur. Seratus microliters dari masing-masing dipindahkan ke microtiter plate baru dan OD ungu kristal yang ada diukur pada 595 nm. Uji biofilm dengan microtiter plate dilakukan tiga kali ulangan.

#### **E. Analisis Data**

Penurunan produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus* dilihat dari hasil uji produksi biofilm dengan metode *Microtiter Plate Polivinil Klorid* pada media Luria bertani yang telah ditambahkan ekstrak Etanol pada masing-masing konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Hasil pengukuran produksi biofilm berupa besarnya nilai Optical Density ungu kristal yang ada diukur pada 595 nm. Dengan desain hasil penelitian sebagai berikut :

**Tabel 1. Desain hasil penelitian Uji Efektifitas Ekstrak *Apinia galanga* L sebagai penghambat produksi biofilm *Staphylococcus aureus*.**

Konsentrasi ekstrak	0%	5%	10%	15%	20%	25%
replikat	A <sup>1</sup>	B <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>	D <sup>1</sup>	E <sup>1</sup>	F <sup>1</sup>
	A <sup>2</sup>	B <sup>2</sup>	C <sup>2</sup>	D <sup>2</sup>	E <sup>2</sup>	F <sup>2</sup>
	A <sup>3</sup>	B <sup>3</sup>	C <sup>3</sup>	D <sup>3</sup>	E <sup>3</sup>	F <sup>3</sup>

Semua eksperimen dilakukan dengan ulangan tiga kali. Data dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) satu arah dengan P-nilai 0,05, menggunakan perangkat lunak statistik paket SPSS versi 16 for Window's.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Karakteristik Bakteri Uji, *Staphylococcus aureus*.

*Staphylococcus* merupakan patogen oportunistik bagi manusia yang kadang-kadang mengkoloni pada manusia dan menimbulkan berbagai infeksi. *Staphylococcus aureus* sering menginfeksi manusia masuk melalui saluran cerna, melalui luka pada kulit, saluran pernafasan, saluran urine, dan lain-lain. penyebaran infeksi terjadi melalui bakteremia (bakteri masuk ke dalam darah), yang sering menyebabkan infeksi di organ dalam. *Staphylococcus aureus* merupakan mikroflora normal tubuh, dengan adanya faktor predisposisi dapat menyebabkan bakteri ini menjadi patogen. Beberapa kasus infeksi yang ditemukan sering resisten terhadap beberapa antibiotik.

*Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari sampel pus pasien. Sampel bakteri teridentifikasi sebagai berikut; pada perwarnaan gram terlihat di bawah mikroskop bakteri termasuk coccus gram positif dan berwarna ungu. Koloni pada media BAP (*Blood Agar Plate*) terlihat koloni halus dengan pigmen warna kuning keemasan, dengan tepian tidak rata, ukuran koloni 2 – 3 milimeter, memiliki kemampuan menghidrolisis sel darah merah, terlihat dari adanya zona bening disekitar koloni, dan memiliki tipe beta hemolysis, terlihat dari media KPD yang berwarna merah karena adanya sel darah merah yang lisis. Pada media NA miring terlihat pigmentasi kuning emas dengan lebih jelas. Menunjukkan tes katalase positif, terlihat dari munculnya gelembung udara pada tes dengan reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

*Staphylococcus aureus* sampel yang diperiksa mengkoagulasikan plasma citrate, yang berarti bahwa bakteri tersebut patogen pada manusia, dan menunjukkan factor virulensinya sudah terekspresi. *Staphylococcus aureus* yang diidentifikasi menunjukkan sifat halofilik (mampu bertahan pada kadar garam yang tinggi, dan mampu memfermentasikan manitol), hal ini terlihat pada media MSA, yang berubah warna menjadi kuning. Hasil uji sensitifitas antibiotik menunjukkan beberapa antibiotik sudah menjadi resisten terhadap bakteri ini, dari 23 antibiotik yang diujikan ada 11 antibiotik sudah resisten dan 13 jenis antibiotik sensitif. hal ini terlihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* Hasil Isolasi dari sampel pus pasien.**

NO	NAMA OBAT	KODE	KONSENTRASI ( $\mu\text{g}$ )	HASIL
1	Amoxycillin	AML	10	Resisten
2	Amoxycillin Clav.Acid	AMC	30	Sensitif
3	Cefriaxone	CRO	30	Sensitif
4	Clindamisin	DA	5	Resisten
5	Ciprofloxacin	CIP	5	Resisten
6	Penicillin G	P	30	Resisten
7	Sulfamethaxazole	SXT	100	Sensitif
8	Fosfomycin	FOS	50	Sensitif
9	Trimethoprim	W	5	Resisten
10	Streptomycin	SXT	10	Sensitif
11	Meropenem	MEM	30	Sensitif
12	Imipenem	IPM	30	Sensitif
13	Nalidic Acid	NA	30	Resisten
14	Amikacin	AK	300	Resisten
15	Cloramphenicol	C	30	Sensitif
16	Gentamycin	CN	10	Sensitif
17	Netilmycin	NET	15	Sensitif
18	Novobiocin	NV	5	Resisten
19	Cephalothin	KF	20	Resisten
20	Kanamycin	KF	15	Resisten
21	Cefepime	FEP	30	Sensitif
22	Cefoxitin	FOX	30	Resisten
23	Ofloxacin	OFL	30	Sensitif

Hasil isolasi *Staphylococcus aureus* hasil isolasi sudah resisten multi obat hal ini menyebabkan sulit diobati jika bakteri tersebut menimbulkan infeksi. Adanya resistensi tersebut bisa dikarenakan beberapa hal antara lain adanya mutasi ataupun rekombinasi struktur gen yang terjadi di dalam sel bakteri. Beberapa bakteri secara alami memang resisten terhadap antibiotik tipe tertentu. Mekanisme resisten bakteri terhadap suatu antibiotik bisa melalui dua cara: 1) dengan mutasi genetika atau 2) dengan mendapatkan resistensi dari bakteri lainnya. (Kievit dan Iglewsski, 2000 dan Todar, 2004)

Mutasi merupakan perubahan spontan yang jarang terjadi pada materi genetis bakteri, diperkirakan terjadi pada satu dari satu juta hingga satu dari sepuluh juta sel. Mutasi genetis yang berbeda akan menghasilkan tipe resistensi yang berbeda juga. Beberapa mutasi mengakibatkan bakteri dapat menghasilkan zat kimia (enzim) yang cukup untuk menonaktifkan antibiotika, ada juga tipe mutasi yang dapat menghilangkan organel atau bagian sel yang menjadi target serangan antibiotika, sedangkan mekanisme mutasi jenis lain bisa terjadi dengan cara menutup “gerbang” tempat masuknya antibiotika ke dalam sel, ada juga yang menghasilkan mekanisme pemompa yang dapat mengirim antibiotika keluar sel sehingga antibiotika tersebut tidak akan pernah dapat mencapai sarannya (Mustika, 2009).

Bakteri bisa mendapatkan gen-gen resisten terhadap antibiotika dari bakteri lain dengan beberapa cara. Dengan melakukan proses perkawinan sederhana yang disebut “konjugasi,” bakteri dapat mentransfer materi genetik, termasuk kode-kode genetik yang resisten terhadap antibiotika (ditemukan dalam plasmid dan transposon) dari satu bakteri ke bakteri yang lainnya (Mustika, 2009).

## B. Pembentukan Biofilm dengan *Microtiter Plate*.

Biofilm adalah suatu istilah yang digunakan untuk menggambarkan suatu lingkungan kehidupan yang khusus dari sekelompok mikroorganisme, yang melekat ke suatu permukaan padat dalam lingkungan perairan. Hal ini menjadi mikrolingkungan yang unik dimana mikroorganisme dalam biofilm berbeda secara struktural maupun fungsional dengan yang hidup bebas atau planktonik (Bauman, 2009)

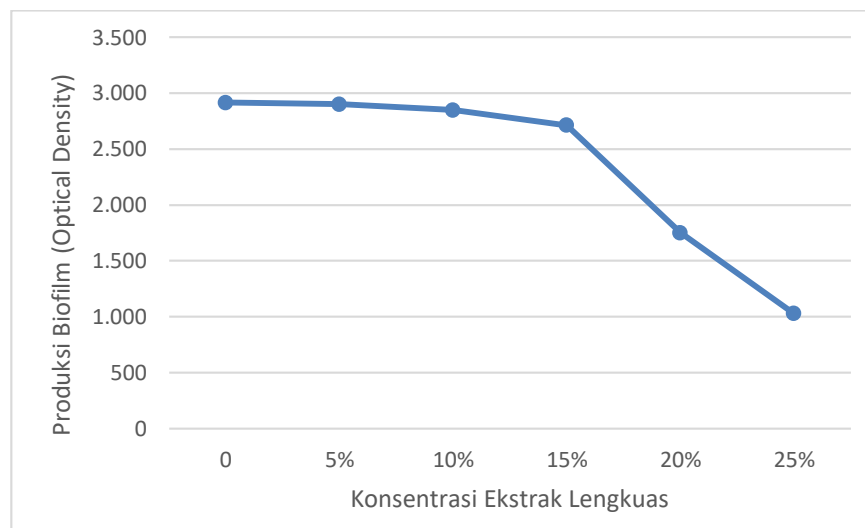
Ada lima tahap perkembangan biofilm pada *Staphylococcus aureus*, yaitu (1) *initial attachment*, (2). *Irreversible attachment*, (3). *maturation I*. (4). *maturation II* . (5). *dispersion* (Allison, 2000). Bakteri yang berada di sebuah biofilm dapat memiliki sifat sangat berbeda dari bakteri yang hidup bebas. Sebagai lingkungan yang padat dan dilindungi dalam lapisan film memungkinkan mereka untuk bekerja sama dan berinteraksi dengan berbagai cara. Apabila suatu bakteri telah membentuk biofilm dan berkolonisasi dalam suatu jaringan atau organ biasanya sudah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik (Adonizio, 2008) hal ini sejalan dengan hasil penelitian ini. Setelah dilakukan pengujian penghambatan Biofilm *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak *Alpinia galanga* L. didapatkan hasil seperti pada Tabel 3.

**Tabel 3. Hasil Optical density pada Uji daya hambat Biofilm *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak *Alpinia galanga* L dengan pelarut etanol.**

Konsentrasi	0	5%	10%	15%	20%	25%
replikasi	2,987	2,932	2,873	1,833	2,687	1,004
	2,834	2,973	2,886	1,734	2,717	1,023
	2,960	2,866	2,767	1,752	2,675	0,976
	2,884	2,832	2,872	1,687	2,774	1,054
Rata-rata	2,916 <sup>a</sup>	2,901 <sup>a</sup>	2,850 <sup>a</sup>	1,752 <sup>b</sup>	2,713 <sup>b</sup>	1,027 <sup>c</sup>

Ket: huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda signifikan berdasarkan LSD 0,05

Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil pengujian biofilm pada *Staphylococcus aureus* terlihat bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak *Alpinia galanga* L maka semakin besar pula penghambatan produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus*, yang berarti bahwa baik pada ekstrak tersebut memiliki kemampuan menghambat produksi biofilm yang dihasilkan *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan uji statistika menunjukkan bahwa pada konsentrasi 15% telah berbeda signifikan dengan konsentrasi 0 (kontrol negatif), sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa konsentrasi terkecil yang mampu menghambat produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 15%.



**Gambar 5.** Nilai Optical Density penghambatan biofilm *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak *Alpinia galanga* L dengan pelarut Etanol.

Hasil uji kemampuan Ekstrak *Alpinia galanga* L pelarut etanol terlihat bahwa antara konsentrasi 0%, 5%, dan 10% tidak berbeda secara signifikan. Perbedaan terlihat mulai konsentrasi 15%, pada konsentrasi 20% secara statistik

memiliki kemampuan yang sama dengan konsentrasi 15%. Namun berbeda dengan konsentrasi 25%. Konsentrasi 25% memiliki kemampuan penghambatan produksi biofilm paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi yang lain.

Ada beberapa faktor yang menentukan pembentukan biofilm suatu bakteri, bakteri dalam biofilm berkomunikasi melalui pesan kimia untuk membantu mengatur dan membentuk struktur tiga dimensi. Biofilm menyebabkan perlindungan bagi bakteri, sebagai contoh pada saat kadar oksigen rendah di bagian dalam biofilm maka akan lebih mengaktifkan zat antibiotik. Kehadiran begitu banyak jenis bakteri dalam biofilm akan meningkatkan kemungkinan bakteri dalam komunitas biofilm dalam melawan dan menjadi kebal terhadap pemberian antibiotik. (Bauman, 2009). Seperti terlihat pada penelitian ini *Staphylococcus aureus* yang digunakan ternyata telah kebal dengan beberapa antibiotik.

Metode pemeriksaan pembentukan biofilm pada *Staphylococcus aureus* tersebut mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Djordjevic *et al* (2002) secara prinsip hasil penelitian yang diperoleh bisa menjadi acuan bahwa pembentukan biofilm dipengaruhi oleh banyak faktor, terutama zat kimia penghambat, lamanya inkubasi, jenis bakteri yang diuji, dan terutama diawali dari sistem *quorum sensing*. Hal ini bisa dijelaskan sebagai berikut, sistem *quorum sensing* diawali dari terpenuhinya jumlah minimal suatu bakteri dilingkungan, kemudian pelepasan molekul sinyal (bahasa), setelah konsentrasinya di lingkungan bakteri terpenuhi, akan memicu pengeluaran faktor virulensinya, dan tahapan selanjutnya adalah pembentukan biofilm. Sehingga untuk menghambat pembentukan biofilm suatu bakteri bisa dilakukan dengan cara menghambat sistem *quorum sensing*nya.



Aplikasi dari hasil penelitian ini bisa diterapkan pada beberapa hal antara lain untuk mengatasi pembentukan faktor virulensi dan biofilm pada pus dan luka, seperti kita ketahui *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab utama infeksi pada luka dan pus, yang akhirnya bisa menjadi infeksi sistemik (Aree *et al.*, 2007), dengan mengisolasi zat aktif penghambat pembentukan biofilm pada ekstrak *Alpinia galanga* L diharapkan mampu mencegah patogenitas *Staphylococcus aureus*, sehingga infeksi bisa dicegah dan pengobatan bisa berlangsung dengan lebih cepat.

Sistem *quorum sensing* bisa menjadi jawaban atas permasalahan diatas, dengan cara mencegah bakteri mengekspresikan gen yang menyandi pembentukan faktor virulensi, pembentukan toksin, dan pelepasan antigen dengan mekanisme *Competitive inhibition*, yaitu senyawa yang struktur kimiawinya homolog dengan molekul sinyal yang digunakan bakteri untuk berkomunikasi baik antar maupun inter spesies, yang sering disebut dengan autoinduser.

Hasil penelitian juga bisa diterapkan dalam industri pengawetan bahan makanan dan minuman. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab *food poisoning syndrome* (keracunan makanan), beberapa bakteri sering mengkontaminasi makanan atau minuman terutama bakteri pembusuk, akan berkolonisasi pada substrat makanan ataupun minuman tersebut yang pada akhirnya bisa mengeluarkan toksin yang bisa merusak produk makanan atau minuman, ekstrak *Alpinia galanga* L diharapkan mampu mengontrol atau menghambat pelepasan *autoinducer* bakteri melalui penghambatan *quorum sensing*, sehingga pencegahan pengumpulan massa dan *autoinducer* pada substrat bisa dihambat dan produksi toksin dan faktor virulensinya bisa dicegah.

Seperti telah kita ketahui, bahwa dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk produk-produk makanan maupun minuman secara bakteriologi pada bahan makanan mentah tetap dicantumkan batas maksimal jumlah total bakteri yang masih diperbolehkan, padahal kalau bahan makanan tersebut dipanaskan seharusnya mikroorganisme pencemarnya akan mati, tetapi hal tersebut tetap di berlakukan karena untuk mencegah adanya sekumpulan bakteri yang karena telah mencapai “*quorum*” pada molekul sinyalnya akan memproduksi enterotoksin yang bersifat tahan panas, sehingga walaupun dipanaskan toksinnya akan tetap bisa bekerja merusak jaringan tubuh, disinilah peran sistem *quorum sensing* pada bakteri bisa dimaksimalkan, dengan memanfaatkan sistem komunikasi pada bakteri ini banyak manfaat yang akan diperoleh yang perlu terus dikaji lagi sehingga bisa muncul penemuan-penemuan baru untuk kehidupan yang lebih baik di masa yang akan datang.

## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah :

1. Ekstrak *Alpinia galanga* L mampu menghambat produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus*.
2. Ekstrak *Alpinia galanga* L mampu menghambat produksi biofilm *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 15%.

#### B. SARAN

Saran yang bisa diusulkan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi bahan (zat aktif) dari *Alpinia galanga* L yang mampu menghambat produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjut tentang kemampuan penghambatan biofilm dari *Alpinia galanga* L terhadap bakteri patogen yang lainnya.
3. Mekanisme penghambatan biofilm pada *Staphylococcus aureus* oleh *Alpinia galanga* L perlu dikaji lebih dalam lagi, untuk kedepannya digunakan sebagai bahan alternative untuk pencegahan, pengobatan, dan menanggulangi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adonizio Allison L., 2008., Anti-quorum sensing Agents From South Florida Medicinal Plants and Their Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity., FIU Electronic Theses and Dissertations, Florida International University.
- Allison, D. (2000). Community Structure and Co-Operation in Biofilms. Cambridge: Cambridge University Press.
- Aree JO., T Suzuki, P Gasaluck, G Eumkeb., 2006., Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*., LWT Food Science and Technology Volume 39, Issue 10, December 2006, Halaman 1214-1220
- Bauman, 2009., biofilm, *Pseudomonas putida*, *Streptococcus mutans*., <http://biobakteri.wordpress.com/2009/06/07/8-biofilm/>. (4 November 2011).
- Borucki, M. K., Peppin, J. D., White, D., Loge, F. and Call, D. R. 2008. Variation in biofilm formation among strains of *Listeria monocytogenes*. Applied and Environmental Microbiology 69: 7336-7342.
- Brady RA, O'May GA, Leid JG, Prior ML, Costerton JW, Shirtliff ME. 2011. Resolution of *Staphylococcus aureus* biofilm infection using vaccination and antibiotic treatment. Infect Immun.;79:1797–1803.
- Catherine Y(2002). Hoodoo Herb and Root Magic: A Materia Magica of African-American Conjure, and Traditional Formulary. Lucky Mojo Curio.
- Cerca N., Pier, GB., Vilanova M., Oliveira R., and Azeredo, J., 2005, “Quantitative Analysis of Adhesin and Biofilm Formation on Hydrophilic and Hydrophobic Surfaces of Clinical Isolates of *Staphylococcus epidermidis*” Research in Microbiology, 156:506-514.
- Chavant, P., Gaillard-Martinie, B., Talon, R., Hebraud, M. and Bernardi, T. 2007. A new device for rapid evaluation of biofilm formation potential by bacteria. Journal of Microbiological Methods 68: 605-612.
- Cue D, Lei MG, Luong TT, Kuechenmeister L, Dunman PM, O'Donnell S, et al., 2009., Rbf promotes biofilm formation by *Staphylococcus aureus* via repression of icaR, a negative regulator of icaADBC. J Bacteriol. 2009;191:6363–6373.
- Davey, M.E. and O'toole G.A., 2000, “Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics”, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4): 847-867.

- DepKes, 2009. Penelitian Epidemiologi Beberapa Penyakit Infeksi Daerah Khusus Ibu Kota Jakarta, Penerbit Departemen Kesehatan DKI Jakarta.
- Djordjevic D, Wiedmann M, McLandsborough LA. 2002. Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 68:2950-2958. de Kievit TR, Iglewski BH. 2000, Bacterium quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect Immun*; 68(9):4839–49.
- Fuqua, C., Winans, S. C. & Greenberg, E. P. 1997. Quorum sensing in bacteria: the LuxR–LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J Bacteriol* 176, 269-275.
- Gunawan, D. dan S. Mulyani. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1. PenebarSwadaya. Jakarta. 140 hlm.
- Iskamto, Bambang. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*. UNS Press: Surakarta
- Janssens, J. C. A., Steenackers, H., Robijns, S., Gellens, E., Levin, J., Zhao, H., Hermans, K., Coster, D. D., Verhoeven, T. L., Marchal, K., Vanderleyden, J., Vos, D. E. D. and Keersmaecker, S. C. J. D. 2008. Brominated furanones inhibit biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Applied and Environmental Microbiology* 74 (21): 6639-6648.
- Jawetz, Melnick, Adelberg, 2008, Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Ed. 22., EGC, Jakarta.
- Kamalita. 1996. *Bakteri Kokus Penghasil Nanah*. Universitas Negeri Sebelas Maret: Surakarta
- Kemenkes RI, 2012; Laporan Epidemiologi beberapa kasus infeksi Endemis di Indonesia tahun 2012, *Cermin Dunia Kedokteran* Vol. 35, No.5, Edisi Januari – Maret 2012.
- Kievit, T.R. and B,H Iglewski, 2000., bacterial Quorum sensing in Pathogenic Relationship. *Infect, and Immun.*
- Klapper I., 2006, Biofilm Mechanics Internet), [www.erc.montana.edu/CBESsential-SW/](http://www.erc.montana.edu/CBESsential-SW/)
- Kristian SA, Golda T, Ferracin F, Cramton SE, Neumeister B, Peschel A, et al., 2004., The ability of biofilm formation does not influence virulence of *Staphylococcus aureus* and host response in a mouse tissue cage infection model. *Microb Pathog.* 2004;36:237–245.
- Koo H, B. Schobel, K. Scott-Anne, G. Watson, W. H. Bowen, J. A. Cury, P. L. Rosalen, and Y. K. Park, 2005., Apigenin and *tt*-Farnesol with Fluoride on *S. mutans* Biofilm and Dental Caries., *J Dent Res*. Author manuscript; available in

- PMC 2006 July 10., Published in final edited form as: J Dent Res. 2005 November; 84(11): 1016–1020., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1490022> (Diunduh 03 desember 2012)
- Kool, DH, Mitsuarees MJ, Bassler BL.2003, Interspecies communication in bacteria. J Clin Invest 2003; 112:1291–9
- Kroupitski, Y., Pinto, R., Brandl, M., Belausov, E. and Sela, S. (2009) Interactions of *Salmonella enterica* with lettuce leaves. Journal of Applied Microbiology 106: 1876-1885.
- Lapidot, A., Romling, U. and Yaron, S. 2006. Biofilm formation and the survival of *Salmonella Typhimurium* on parsley. International Journal of Food Microbiology 109: 229-233.
- Listyasari, NA., 2011, Pengaruh pasta gigi dengan kandungan propolis terhadap pembentukan plak, e-journal Media Medica Muda FK - Universitas Diponegoro. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/medico/article/viewFile/1924/1922> (diunduh 6 Desember 2012).
- Magdalena, dan Yogiara, 2006., Screening of Bioactive Compound from Plant Extract Inhibiting Biofilm Formation". Prosiding PERMI tahun 2006.
- Manijeh, M., Mohammad, J. and Roha, K. K. 2008. Biofilm formation by *Salmonella enteritidis* on food contact surfaces. Journal of Biological Sciences 8 (2):502-505.
- Mustika F., 2009., Isolation and screening of Biofilm forming bacteria for optimization of biofilm production by addition of sugar and antibiotics variation and its concentration in Nile tilapia oral vaccines development (*Oreochromis niloticus* Lac), School of Life Sciences and Technology- ITB.
- Perlroth J, Kuo M, Tan J, Bayer AS, Miller LG., 2008., Adjunctive use of rifampin for the treatment of *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review of the literature. Arch Intern Med. 2008;168:805–819.
- Rahayu DE., 1999., Kandungan Kimiawi Tanaman Obat Indonesia., Penerbit Pelita Karya Pustaka., Surabaya – Indonesia.
- Rasmussen TB, Thomas Bjarnsholt, Mette Elena Skindersoe, Morten Hentzer, Peter Kristoffersen, Manuela Korte, John Nielsen, Leo Eberl, and Michael Givskov, 2005., Screening for Quorum-Sensing Inhibitors (QSI) by Use of a Novel, Genetic System, the QSI Selector *Journal of Bacteriology*, Mar. 2005, p. 1799–1814 Vol. 187, No. 5 0021-9193/05/\$08.00\_0 doi:10.1128/JB.187.5.1799–1814.2005., American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

- Rukayadi Y dan Hwang Jae Kwan, 2009., Pencegahan Quorum Sensing: Suatu pendekatan baru untuk mengatasi infeksi bakteri., *Cermin Dunia Kedokteran* Vol. 22, No.1, Edisi Maret - Mei 2009.
- Rukayadi Y, Hwang JK. 2006. Effect of xanthorrhizol on *Streptococcus mutans* biofilm in vitro. *J Mikrobiol Indones* (11):40-43.
- Sinaga E., 2004., *Alpinia galanga* L., Pusat Penelitian dan pengembangan Tumbuhan Obat UNAS/P3TO UNAS.
- Sukmawati FR, 2007., Ekstrak Lengkuas sebagai Agen Antimikrobia., <http://www.farmacindo.com/antibakteri/teks/09558/44/29826.htm> (10 Mei 2010).
- Suwanto, A., 2005 Strategi Baru Mengendalikan Penyakit Infeksi, <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0211/081/iptek/mema36.htm> (20 Mei 2011).
- Todar, 2008., *Staphylococcus aureus*., University Of Winconsin, department Of Bacteriology., <http://www.textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html> (12 Juni 2010).
- Wahyudi D., Sutarno, Pangastuti A, 2010 *Penghambatan Sistem Quorum Sensing Pseudomonas aeruginosa Oleh ekstrak Lengkuas (Alpinia galanga L)*, Simposium Penelitian bahan Obat Alami XV; UNS Press.
- Warsa, Usman, Chattib. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara: Jakarta
- White, A.P., Gibson, D.L., Collinson, S.K., Banser, P.A., Kay, W.W., 2003. Extracellular polysaccharides associated with thin aggregative fimbriae of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *J. Bacteriol.* 185, 5398–5407.
- Wijiono, 2009, Pencegahan Biofilm Gigi dengan Apigenin dan tt-farnesol, Penerbit Universitas Sumatra Utara