

Pengaruh Ekstrak *Alpinia galanga* L Terhadap Produksi Biofilm pada *Staphylococcus aureus*

Oleh :

Didik Wahyudi (Akademi Analisis Kesehatan Nasional Surakarta), 2012

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.

PENDAHULUAN.

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 satu substrat 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 plak pada gigi. *Alpinia galanga* L telah diketahui mempunyai kemampuan menghambat sistem *quorum sensing* pada bakteri, namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Berdasarkan pemikiran di atas maka penulis melakukan penelitian tentang Pengaruh Ekstrak *Alpinia galanga* L terhadap produksi biofilm pada *Staphylococcus aureus*.

Rumusan Masalah.

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

METODE PENELITIAN

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 (FeCl_3) 10 %, Kalium Hidroksida (KOH) 40 %, *Barried*,. disk Antibiotik Lengkap.

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).

Isolasi Bakteri Uji

Staphylococcus aureus diperoleh dari isolasi dari sampel pus pasien Rumah Sakit

1. 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.
2. 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 H₂O₂ 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.

3. Uji Pembentukan Biofilm dengan *Microtiter Plate Polivinil Klorida*.

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

Kultur *Staphylococcus aureus* pada media LB segar yang mengandung ekstrak *Apium graveolens* pada konsentrasi 0% (sebagai kontrol) 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%, kemudian diinkubasi dalam 10 ml media diperkaya TSBYE, pada suhu 32°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°C selama 20 dan 40 jam. Setiap *plate* termasuk delapan sumur MWB tanpa *P. aeruginosa* 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.

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 mikro flora 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 H₂O₂.

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 di bawah ini.

Tabel 2. Hasil Uji Sensitivitas antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* Hasil Isolasi dari sampel pus pasien.

NO	NAMA OBAT	KODE	POTENSI OBAT (μ GRAM)	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 genetik bakteri, diperkirakan terjadi pada satu dari satu juta hingga satu dari sepuluh juta sel. Mutasi genetik 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 sarasannya (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 Polivinil Klorida*

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)

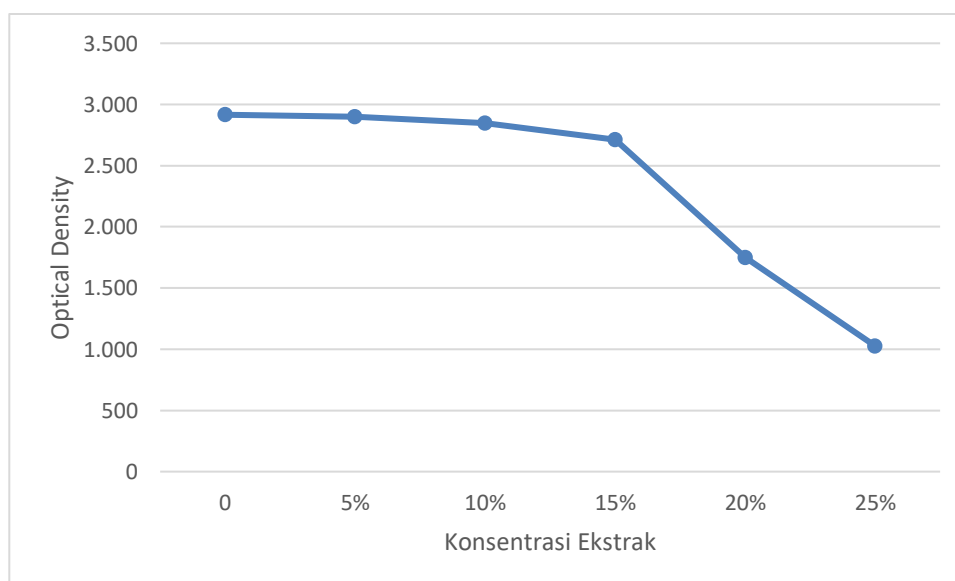
Ada lima tahap perkembangan biofilm pada *Staphylococcus aureus*, yaitu (1) *initial attachment*, (2). *Irreversible attachment*, (3). *maturation I*. (4). *maturation II* . (5). *dispersion* (Allison, 2000).

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 sebagai berikut:

Tabel 4. 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%
Etanol	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 ^a	2,901 ^a	2,850 ^a	1,752 ^b	2,713 ^b	1,027 ^c

Pada 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 *Salmonella typhi*.



Gambar 6. 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.

Hasil penelitian juga bisa dijadikan referensi untuk sistem 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. Sistem *quorum sensing* juga bisa dikembangkan untuk menjawab beberapa permasalahan yang timbul disebabkan aktivitas bakteri.

SIMPULAN

Simpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah :

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

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.
- 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
- Allison, D. (2000). Community Structure and Co-Operation in Biofilms. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bauman, 2009., biofilm, *Pseudomonas putida*, *Streptococcus mutans*., <http://biobakteri.wordpress.com/2009/06/07/8-biofilm/>. (4 November 2012).
- Borucki, M. K., Peppin, J. D., White, D., Loge, F. and Call, D. R. 2003. Variation in biofilm formation among strains of *Listeria monocytogenes*. Applied and Environmental Microbiology 69: 7336-7342.
- Catherine Y(2002). Hoodoo Herb and Root Magic: A Materia Magica of African-American Conjure, and Traditional Formulary. Lucky Mojo Curio.
- 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.
- DepKes, 2009. Penelitian Epidemiologi Beberapa Penyakit Infeksi Daerah Khusus Ibu Kota Jakarta, Penerbit Departemen Kesehatan DKI Jakarta tahun 2010
- 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
- Kool, DH, Mitsuarees MJ, Bassler BL. 2003, Interspecies communication in bacteria. J Clin Invest 2003; 112:1291-9
- 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. Penebar Swadaya. 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
- Kievit, T.R. and B, H Iglewski, 2000., bacterial Quorum sensing in Pathogenic Relationship. Infect, and Immun.
- Kemenkes RI, (2012); Laporan Epidemiologi beberapa kasus infeksi Endemis di Indonesia tahun 2012, *Cermin Dunia Kedokteran* Vol. 35, No.5, Edisi Januari –Maret 2013.
- 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 2013)

- 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., 2012, 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/view/File/1924/1922> (diunduh 6 Desember 2013).
- 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
- 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, Hwang JK. 2006. Effect of xanthorhizol on *Streptococcus mutans* biofilm in vitro. *J Mikrobiol Indones* (11):40-43.
- 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.
- 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).
- Warsa, Usman, Chattib. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara: Jakarta
- 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.
- 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