

Potensi Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Putih(*Alpinia galanga* W) Sebagai Penghambat dan Penghancur Biofilm *Staphylococcus aureus*

Andromeda Kharisa Azzahra, Citra Destya Rahma Putri, Rio Risandiansyah*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Biofilm adalah komunitas bakteri yang mampu terbentuk di permukaan peralatan medis dan menjadi fokus infeksi, yang menimbulkan risiko serius terhadap keselamatan dan kualitas perawatan pasien. Pengelolaan biofilm memerlukan senyawa baru yang dapat menghambat pembentukannya atau menghancurkan biofilm yang telah terbentuk. *Alpinia galanga* W (lengkuas putih) adalah rimpang yang banyak ditemukan di Indonesia dan mempunyai aktivitas berupa antimikroba kuat terhadap bakteri Gram-positif, namun, potensinya untuk aktivitas antibiofilm belum diketahui.

Metode : Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *in vitro* untuk menguji rusaknya biofilm yang diakibatkan pemberian sampel lengkuas putih. Siplisia lengkuas dimaserasi menggunakan etanol 96% dan difraksinasi untuk memperoleh fraksi etil asetatnya, diuapkan, dan disuspensi menggunakan DMSO 3%. Biofilm diukur dengan metode pewarnaan kristal violet yang kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 585 nm. Hasil penelitian dianalisis menggunakan uji ANOVA ($p < 0,05$).

Hasil : Efektif pada penghancuran biofilm yang telah terbentuk sebelum (*preformed biofilm*) diperoleh pada fraksi etil asetat pada dosis 500 ppm sebesar 64,7%.

Kesimpulan : Fraksi etil asetat dosis 500 ppm dapat menghancurkan biofilm *Staphylococcus aureus* yang telah terbentuk.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus*, *Alpinia galanga* W, Antibiofilm, Etil asetat.

*Korespondensi :

Rio Risandiansyah

Jl. MT Haryono 193, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail : riorisandiansyah@unisma.ac.id

The Potential of Ethyl Acetate Fraction of White Galangal Rhizome (*Alpinia galanga* W) as Antibiofilm Agent Against *Staphylococcus aureus*

Andromeda Kharisa Azzahra, Citra Destya Rahma Putri, Rio Risandiansyah*

*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Biofilms are communities of bacteria that can appear on the surfaces of medical devices and constitute a focus of infection, posing a serious risk to the safety and quality of care for patients globally. Management of biofilm requires novel compounds which can inhibit its formation, such as flavonoids from natural sources. *Alpinia galanga* W (white galangal) is a rhizome that is found in abundance in Indonesia and has strong antimicrobial activity against Gram-positive bacteria, however, its potential for antibiofilm activity is unknown.

Method: This research is a laboratory experimental study with an *in vitro* research design to test the inhibition and destruction of biofilms that was differentiated based on the time of sample administration. *Alpinia galanga* W simplisia was macerated using ethanol and fractionated to obtain its ethyl acetate fraction, evaporated, and suspended using DMSO 3%. Biofilm was quantified using a crystal violet staining method which was then measured using a spectrophotometer at 535 nm. The results were analyzed using ANOVA ($p < 0.05$).

Results: Effective destruction of preformed biofilm was obtained in the ethyl acetate fraction at a dose of 500 ppm of 64.7%.

Conclusion : The ethyl acetate fraction at dose 500 ppm can destroy the *Staphylococcus aureus* biofilm that has been formed.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Alpinia galanga* W, Antibiofilm, Ethyl acetate.

*Korespondensi :

Rio Risandiansyah

Jl. MT Haryono 193, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail : riorisandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Biofilm adalah matriks ekstraseluler (ECM) berbentuk selaput yang terbentuk oleh adhesi koloni bakteri dan zat polimer ekstraseluler (EPS) seperti polisakarida, asam nukleat, dan protein yang disekresikan oleh bakteri selama proses pertumbuhan, dan bersifat kohesi dan viskoelastisitas¹. Menyebabkan, bakteri dapat menempel pada permukaan biotik dan abiotik. Dalam beberapa studi diterangkan juga bahwa bakteri yang memproduksi biofilm dapat menghindari mekanisme kerja antibiotik, fagositosis, dan komponen desinfektan lainnya dengan berbagai mekanisme, hal ini membuat penanganan bakteri yang memproduksi biofilm semakin sulit. Pembentukan biofilm melindungi mikroorganisme terhadap sistem kekebalan tubuh, sehingga terjadi infeksi kronis persisten. Selain itu, mikroba patogen dalam biofilm sangat resisten terhadap antimikroba, sehingga infeksi sulit diobati². Bakteri yang dapat menyebabkan *Healthcare-associated infections* (HAIs) melalui pembentukan biofilm baik bakteri Gram positif atau Gram negatif, seperti bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* yang memegang peran utama³.

Staphylococcus aureus adalah salah satu dari sekian banyaknya bakteri yang patogen yang menjadi penyebab munculnya infeksi pada semua sistem organ dengan atau tanpa komplikasi⁴. Bakteri ini tersebar luas di lingkungan rumah sakit dan menempel dan bertahan pada jaringan inang dan perangkat medis yang terpasang. Hal ini dapat menjadi penyebab HAIs dan dapat menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak, osteomielitis, endokarditis, pneumonia, bakteremia, hingga kematian⁵. Infeksi *Staphylococcus aureus* sulit ditangani karena sering terjadi resistensi antibiotik sehingga penting secara klinis. Selain resistensi antibiotik spesifik, resistensi antibiotik nonspesifik melalui pembentukan biofilm berperan dalam banyak infeksi *Staphylococcus aureus* yang terkait dengan biofilm⁴. Antibiotik telah banyak digunakan untuk kasus infeksi bakteri, namun biofilm dapat menyebabkan peningkatan ketahanan bakteri terhadap antibiotik. Pada kondisi infeksi tertentu seperti infeksi yang terkait prostesis dan kateter hal ini sangat diperhatikan karena didalam biofilm terjadi peningkatan kolonisasi dan perubahan fisiologi. Maka dibutuhkan penanganan yang lebih efektif terhadap pembentukan biofilm⁶.

Indonesia sebagai negara yang dikenal memiliki biodiversitas yang tinggi dimana kaya akan flora yang belum diteliti secara menyeluruh, antara lain *Alpinia galanga W* (lengkuas putih). Lengkuas putih adalah rimpang yang sering di jumpai di Indonesia. Rimpang lengkuas putih dikenal mempunyai kandungan komponen utama berupa flavonoid yang terbukti memiliki efek sebagai antibakteri serta antiinflamasi terhadap bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus epidermidis*. Selain itu, Sebuah penelitian pada aktivitas antimikroba

menampilkan bahwa pada sebuah ekstrak etanol lengkuas putih juga mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*⁷. Sebuah penelitian melaporkan ekstrak lengkuas putih memiliki antibiofilm terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan potensi 30%⁸. *Staphylococcus aureus* memiliki struktur sel yang berbeda dan protein-protein permukaan yang berbeda, sehingga efek aktivitas antibiofilm dari lengkuas putih yang berfungsi untuk dipelajari apakah pada *Escherichia coli* juga berfungsi pada *Staphylococcus aureus*. Penelitian terhadap *Staphylococcus aureus* belum banyak dilakukan. Selain itu, senyawa aktif yang ada pada lengkuas putih yang memiliki peran sebagai antibiofilm belum diketahui kejelasannya.

Penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui efektifitas paparan fraksi etil asetat dari lengkuas putih dibandingkan dengan ekstrak kasar dari lengkuas putih. Metode untuk mengetahui potensi antibiofilm dilakukan dengan melihat absorbansi kristal violet pada biofilm yang terbentuk. Fraksi etil asetat dipilih karena dapat menarik senyawa flavonoid, tanin, kuinon, steroid yang diduga memiliki efek antibiofilm. Potensi suatu senyawa sebagai Penghancur biofilm yang sudah terbentuk.

METODE PENELITIAN

Desain, waktu, dan tempat penelitian

Jenis penelitian ini berupa eksperimen laboratorium secara *in vitro* dengan menggunakan metode mikrodilusi. Waktu penelitian juli hingga september 2024 bertempat di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Sampel Penelitian

Simplisia *Alpinia galanga W* (lengkuas putih) yang didapatkan dari Balai Besar Penelitian dan pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional.

Proses Ekstraksi *Alpinia galanga W*

Rimpang *Alpinia galanga W* (lengkuas putih). Dikeringkan hingga beratnya 400 gram dan dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan menggunakan 1:5 (b/v) sebagai perbandingan dan dilakukan selama 24 jam. Hasil yang didapat disaring dengan bantuan corong lalu ekstrak dicampur dan diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* yang dilengkapi dengan pemanas *water bath* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental⁶. Ekstrak kental dituang kedalam cawan porselen dan dipanaskan dengan oven pada suhu 50°C hingga kental. Rendemen yang diperoleh ditimbang⁹.

Proses Fraksinasi Ekstrak *Alpinia galanga W*

Fraksinasi dilakukan dengan cara rendaman diambil lalu dilarutkan dalam aquadest hangat di dalam corong pisah dengan perbandingan 1:6 (b/v) atau 100 gram rendemen dalam 600 ml aquadest hangat. Etil asetat ditambahkan ke corong pisah dengan volume yang sama dengan aquadest. Lalu

dikocok setiap 15 menit selama 1 jam sehingga akan tercampur. Ketika didiamkan maka terdapat beberapa senyawa yang berkumpul atas corong. Etil asetat dipisahkan dengan aquadest dengan cara corong dibuka sehingga menghasilkan fraksi etil asetat. fraksi dievaporasi dan ditimbang rendamennya¹⁰.

Perhitungan Rendemen fraksi

Rendemen dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak *Alpinia galanga* W

Dilakukan identifikasi fitokimia untuk metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin, alkaloid dan terpenoid

Uji Flavonoid

Sampel fraksi etil asetat ekstrak rimpang *Alpinia galanga* W sebanyak 1 ml dipanaskan dengan waktu 5 menit lalu disaring. Selanjutnya, ditambah NaOH 10% sebanyak beberapa tetes kedalam ekstrak yang sudah disaring lalu dikocok dengan durasi 1-2 menit. Langkah berikutnya adalah ditambahkan HCl pekat beberapa tetes lalu diikuti penambahan 0,1 gram bubuk magnesium. Apabila larutan berubah merah, maka menunjukkan adanya kandungan flavonoid¹¹.

Uji Saponin

Selanjutnya, fraksi etil asetat ekstrak rimpang *Alpinia galanga* W sebanyak 2 ml dimasukkan dalam tabung reaksi diberi tambahan 5 ml air suling lalu dididihkan dengan durasi 2 hingga 3 menit. Setelah dingin maka dikocok kuat. Terbentuknya busa yang stabil menunjukkan hasil tes yang positif.¹¹.

Uji Tanin

Satu mililiter fraksi etil asetat ekstrak rimpang *Alpinia galanga* W dipindahkan pada tabung reaksi dan sebanyak 2-3 tetes larutan FeCl₃ 5% ditambahkan. Adanya perubahan warna menjadi hijau atau biru menjadi coklat, ini menunjukkan adanya tanin¹¹.

Uji Alkaloid

Sampel fraksi etil asetat sebanyak 4 gram ekstrak rimpang *Alpinia galanga* W dicampur dengan penambahan berupa kloroform lalu digiling. Kemudian diberi tambahan 10 ml kloroform dan 10 ml amonia 0,05N dan dipindahkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya, tambahkan 10 tetes asam sulfat 2N, kocok, lalu di diamkan sampai terbentuknya dua lapisan. Kemudian Lapisan atas dipindahkan ke tiga tabung reaksi yang setiap tabung diisi sebanyak 2,5 ml. Penggunaan pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan merah jingga yang dapat diartikan adanya kandungan alkaloid¹¹.

Uji Terpenoid

Sampel fraksi etil asetat ekstrak rimpang *Alpinia galanga* W sebanyak 4 gram diletakkan pada pelat dan ditambahkan anhidrida asetat (Ac₂O) sampai terserap pada sampel dan diamkan dengan durasi kurang lebih 15 menit. Kemudian, pindahkan larutan sampel beberapa tetes ke lubang lain lalu diberi tambahan sebanyak satu atau dua tetes asam sulfat pekat. Jika warna menjadi jingga, merah, atau ungu maka terdapat kandungan berupa terpenoid¹¹.

Persiapan Bakteri

Strain bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi ke dalam media agar nutrisi dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18–20 jam, kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu 4–8 °C dan disegarkan setiap 2 minggu.

Pembuatan Biofilm pada 96 wellplate

Bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi ke dalam 3-5 mL media pertumbuhan *Nutrient Agar*. Bakteri ditumbuhkan pada suhu 37°C selama semalaman. Setelah diinkubasi bakteri diambil menggunakan ose dan dilarutkan kedalam tabung reaksi berisi NaCl dan di vortex lalu disamakan tingkat kekeruhannya dengan standar *McFarland* 0,5¹². Sampel ekstrak disiapkan 1000 ppm untuk uji penghancuran biofilm yang telah terbentuk (*pre formed*) dan 7000 ppm untuk uji inhibisi. Pada 96 wellplate, sumuran pertama diisi dengan 200 µL *Brain-heart infusion Broth* (BHIB) + 5% sukrosa, 120 µL pada sumuran 2-5 dan 100 µL pada sumuran 6-12 menggunakan *multichannel*. Bakteri sebanyak 20 µL ditambahkan pada sumuran 1-11¹. Pada sumuran 11 terdapat tiga kontrol positif : pertama berupa penambahan DMSO 3% sebanyak 20 µL, kedua tanpa penambahan hanya berisi media dan bakteri, ketiga penambahan DMSO 3% sebanyak 20 µL setelah 24 jam inkubasi. DMSO digunakan untuk memastikan bahwa hasil yang didapatlan bukan karena DMSO tetapi karena sampel fraksinasi yang mempengaruhi biofilm atau tidak. Selanjutnya wellplate ditutup dengan penutup serta di inkubasi dengan suhu sebesar 37°C dengan durasi 24 jam. Kemudian sampel ditambahkan pada sumuran 6-10 untuk menguji penghancuran biofilm yang telah terbentuk (*pre formed*).

Pewarnaan dan Pembacaan Biofilm

Setelah inkubasi selesai, sel planktonik dikeluarkan dari 96 wellplate menggunakan *multichannel*. 96 wellplate dicuci dua kali menggunakan *Phosphate Buffered Saline* (PBS) 200 µL dengan pH 7,4 untuk melunturkan bakteri yang tidak menempel. Sampel 1000 ppm dimasukkan sejumlah 120 µL pada sumuran 6-10. Sumuran 11 dilakukan kontrol positif yang diberi DMSO 3% sebanyak 120 µL dibiarkan selama 10 menit kemudian dicuci menggunakan PBS sejumlah 200 µL lalu diisi metanol 96% 120 µL dibiarkan selama 10 menit. Setelah itu dikeluarkan dan diberi larutan kristal violet 120 µL. Volume ini memastikan bahwa noda akan menutupi biofilm dibiarkan 3 menit lalu dicuci menggunakan PBS 200 µL sebanyak dua kali

lalu dielusi menggunakan asam asetat glasial 33% sebanyak 200 μ L dan dibaca menggunakan spektrofotometri¹.

Perhitungan Persentase Inhibisi dan Penghancuran biofilm yang telah terbentuk (*pre formed*)

Pengukuran presentase pada nilai biofilm adalah sebagai berikut:

$$\% \text{Biofilm yang rusak} = \frac{\text{Pre} - \text{Post}}{\text{Pre}} \times 100\%$$

Keterangan :

Pre = nilai absorbansi kristal violet sebelum diberikan perlakuan sampel herbal

Post = nilai absorbansi kristal violet setelah diberikan perlakuan sampel herbal

Kontrol negatif = media BHIB + sukrosa 5%

Kelompok perlakuan = Kelompok dengan pemberian herbal

Analisa Data

Penelitian ini menggunakan Analisa statistik *analysis of variance* (ANOVA) dengan membandingkan presentase inhibisi pada kelompok perlakuan dengan dosis berbeda kelompok kontrol positif ekstrak kasar menggunakan ANOVA *one way* dengan *post-hoc Least Significant Difference* (LSD) jika data yang didapatkan normal dan homogen.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil uji fitokimia secara kualitatif

Hasil pengujian fitokimia *Alpinia galanga W* memanfaatkan variasi pelarut didapatkan perolehan sesuai Tabel 1

Tabel 1. Uji fitokimia Fraksi Etil asetat *Alpinia galanga W*

Uji Fitokimia	Hasil	Gambar	Interpretasi
Flavonoid	-		Warna kuning-jingga
Saponin	-		Busa permanen 10-15 menit
Tanin	-		Warna biru-biru keunguan
Alkaloid	+		Endapan putih
Terpenoid	+		Warna coklat-merah

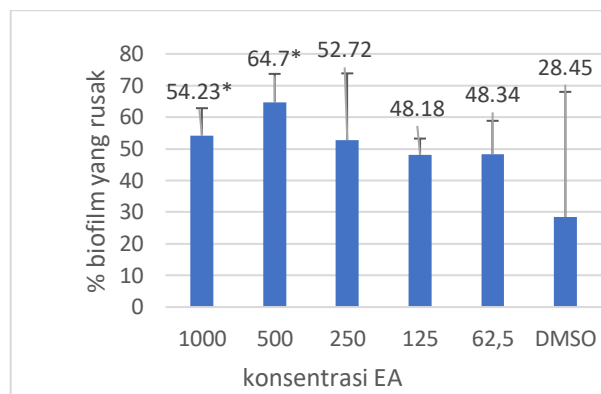
Keterangan : (+) positif mengandung metabolik sekunder. Ekstrak *Alpinia galanga W* dengan pelarut etil asetat berisikan metabolik sekunder alkaloid dan terpenoid.

Hasil Pengujian Penghancuran Biofilm yang terbentuk (*pre formed*) Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 2. Destruksi biofilm bakteri *Staphylococcus aureus*

N = 6	Dosis	$\bar{X} \pm SD$
	1000	54,23% $\pm$ 8,61%
	500	64,70% $\pm$ 8,98%
	250	52,72% $\pm$ 21,12%
	125	48,18% $\pm$ 5,06%
	62,5	48,34% $\pm$ 10,51%
	DMSO	28,45% $\pm$ 39,55%

Keterangan : Berdasarkan pengujian statistik *oneway Anova* memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai sig 0.035 ($p < 0.05$). Berdasarkan hasil pengujian data terdistribusi normal dan homogen.



Gambar 1. Histogram perhitungan hasil destruksi biofilm pada berbagai dosis yang diuji.

Keterangan :

(*) dosis 1000 ppm dan 500 ppm menunjukkan perbedaan bermakna terhadap DMSO ($p < 0.05$). Menunjukkan tidak ada beda yang signifikan antar dosis fraksi.

Menampilkan hasil tidak ada perbedaan yang bermakna terhadap DMSO pada dosis 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm

PEMBAHASAN

Kandungan fitokimia dalam Fraksi Etil Asetat Ekstrak *Alpinia galanga W*

Pada uji fitokimia fraksi etil asetat ekstrak *Alpinia galanga W* menunjukkan hasil didapatkan kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid dan terpenoid. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa pada fraksi etil asetat ekstrak *Alpinia galanga W* dapat menarik senyawa terpenoid⁹.

Potensi paparan fraksi etil asetat *Alpinia galanga W* (lengkuas putih) terhadap Penghancuran biofilm *Staphylococcus aureus*

Hasil presentase potensi penghancuran biofilm yang telah terbentuk (*pre formed*) fraksi etil asetat *Alpinia galanga W* terhadap inhibisi biofilm *Staphylococcus aureus*. Pada dosis 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm memiliki hasil

yang efektif untuk menghancurkan biofilm. Pada dosis 500 ppm sebesar 64,7%.

Staphylococcus aureus adalah salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan berbagai infeksi pada semua sistem organ dengan atau tanpa komplikasi⁴. Bakteri ini tersebar luas di lingkungan rumah sakit. Bakteri menempel dan bertahan pada jaringan inang dan perangkat medis yang terpasang. Hal ini dapat menjadi penyebab HAIs dan dapat menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak, osteomielitis, endokarditis, pneumonia, bakteremia, hingga kematian⁵. Infeksi *Staphylococcus aureus* sulit ditangani karena sering terjadi resistensi antibiotik sehingga penting secara klinis. Selain resistensi antibiotik spesifik, resistensi antibiotik nonspesifik melalui pembentukan biofilm berperan dalam banyak infeksi *Staphylococcus aureus* yang terkait dengan biofilm⁴. Antibiotik telah banyak digunakan untuk kasus infeksi bakteri, namun biofilm dapat menyebabkan peningkatan ketahanan bakteri terhadap antibiotik. Pada kondisi infeksi tertentu seperti infeksi yang terkait prostesis dan kateter hal ini sangat diperhatikan karena didalam biofilm terjadi peningkatan kolonisasi dan perubahan fisiologi. Maka dibutuhkan penanganan yang lebih efektif terhadap pembentukan biofilm⁶.

Biofilm adalah kumpulan sel mikroba yang terikat secara *irreversibel* dengan permukaan yang dibungkus dalam matriks zat polimer terutama terdiri dari bahan polisakarida yang diproduksi sendiri dan melekat pada permukaan biotik maupun abiotik¹³. Bahan lain yang dapat ditemukan pada biofilm adalah bahan nonseluler seperti kristal mineral, partikel korosi, atau komponen darah yang mana tergantung pada lingkungan di mana biofilm tersebut berkembang. Biofilm dapat terbentuk di berbagai permukaan pada jaringan hidup ataupun bahan abiotik seperti kateter dan pada peralatan medis. Awalnya biofilm berbentuk sekelompok kecil sel yang kemudian bereplikasi dan membelah dan menjadi struktur kompleks¹⁴.

Formasi biofilm diregulasi oleh mekanisme *quorum sensing*, yang juga mengatur pembentukan spora dan produksi metabolit sekunder yang merupakan komunikasi antar sel-sel bakteri menggunakan *auto inducers (signalling molecules)* dan dihasilkan secara *density-dependent*. Mekanisme ini akan mengatur pembentukan spora produksi metabolit sekunder dan koordinasi dari bakteri dalam suatu koloni. Biofilm membantu bakteri untuk berkembang di lingkungan dengan cara meningkatkan perlekatan antar bakteri dengan permukaan, melindungi dari antibiotik, sistem kekebalan tubuh, kekeringan, predasi, dan kekurangan nutrisi¹⁵.

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa cara kerja senyawa aktif alkaloid yang memiliki daya antibiofilm yang mempunyai kemampuan dalam penghambatan pada proses terbentuknya EPS dan proses quorum sensing. Terpenoid turut serta pada kerja antibiofilm dengan melakukan penghambatan dalam proses terbentuknya biofilm

melalui penghambatan sintesis EPS melalui gangguan pada ekspresi selulosa. Terdapat banyak jenis alkaloid diantaranya alkaloid steroid, alkaloid purin, alkaloid heterosiklik, alkaloid nonheterosiklik. Pada terpenoid terdapat jenis monoterpenoid, seskuiterpenoid, diterpenoid, sesterpenoid, tetraterpenoid. Namun belum diketahui pada penelitian ini yang bekerja adalah jenis metabolik sekunder alkaloid atau terpenoid.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian dapat diambil kesimpulan:

1. Fraksi etil asetat positif mengandung metabolik sekunder alkaloid serta terpenoid.
2. Fraksi etil asetat *Alpinia galanga* secara mempunyai potensi penghancuran biofilm bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah terbentuk (*pre formed*) dengan presentase penghancuran biofilm yang telah terbentuk (*pre formed*) efektif pada dosis 500 ppm yakni sebesar 64,7%.

SARAN

Mengacu hasil penelitian terlaksana oleh peneliti, berikut sejumlah rekomendasi yang dapat diajukan:

1. Perlu dilakukan penelitian dengan metode penilaian direk sehingga bisa membedakan antara biofilm yang masih hidup dan sudah mati.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa pengujian yang detail pada kadar senyawa metabolik sekunder yang terkandung pada rimpang *Alpinia galanga W* dengan menggunakan metode uji fitokimia kuantitatif. Perlu dilakukan isolasi alkaloid atau terpenoid untuk menguji biofilm.
3. Perlu dilakukan penelitian untuk mencari tahu mekanisme penghancuran biofilm.
4. Perlu mengganti DMSO dengan pelarut yang tidak menghancurkan biofilm

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada IOM (Ikatan Orang Tua Mahasiswa) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah memberikan dukungan dan bantuan biaya untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Coffey, B.M. and Anderson, G.G., 2014. Biofilm formation in the 96-well microtiter plate. *Pseudomonas methods and protocols*, pp.631-641.
2. Singh, S., Singh, S.K., Chowdhury, I. and Singh, R., 2017. Understanding the mechanism of bacterial biofilms resistance to antimicrobial agents. *The open microbiology journal*, 11, p.53.
3. Santri, P., Mulyadi, M. and Taurina, H., 2016. Angka dan Pola Bakteri Penyebab Healthcare-

- Associated Infections (HAIs) pada Udara di Ruang Intensive Cardiac Care Unit (ICCU) Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) dr. M. Yunus Bengkulu. *Jurnal Kedokteran Raflesia*, 2(2).
4. Cheung, G.Y., Bae, J.S. and Otto, M., 2021. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), pp.547-569.
 5. Peng, Q., Tang, X., Dong, W., Sun, N., & Yuan, W. (2022). A review of biofilm formation of *Staphylococcus aureus* and its regulation mechanism. *Antibiotics*, 12(1), 12.
 6. Martínez, J.L., 2017. Effect of antibiotics on bacterial populations: a multi-hierarchical selection process. *F1000Research*, 6.
 7. Prihannensia, M., Winarsih, S., & Achmad, A. (2018). Uji Aktivitas Sediaan Gel Dan Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Secara In Vitro. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 4(1), 23-28.
 8. Wahyudi, D. and Wael, S., 2021. Pengaruh Ekstrak *Alpinia galanga* L Terhadap Produksi Biofilm pada *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 10(1), pp.24-30.
 9. Puspita, I.T. and Muflihah, C.H., 2023. Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* serta bioautografinya. *Usadha Journal of Pharmacy*, pp.144-162.
 10. Putri, A. Y., 2021.(Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun, 2021). Uji Aktivitas Dan Efektivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Herba Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, vol.
 11. Kurniawati, A., Hakim, R., & Risandiansyah, R. (2024). EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL RIMPANG LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata*) TERHADAP ANTIBIOFILM *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*, 12(1).
 12. Lade, H., Park, J.H., Chung, S.H., Kim, I.H., Kim, J.M., Joo, H.S. and Kim, J.S., 2019. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* clinical isolates is differentially affected by glucose and sodium chloride supplemented culture media. *Journal of clinical medicine*, 8(11), p.1853.
 13. Donlan, R.M., 2002. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), p.881.
 14. Di Somma, A., Moretta, A., Canè, C., Cirillo, A. and Duilio, A., 2020. Antimicrobial and antibiofilm peptides. *Biomolecules*, 10(4), p.652.
 15. Vani, S., Vadakkan, K. and Mani, B., 2023. A narrative review on bacterial biofilm: its formation, clinical aspects and inhibition strategies. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(1), p.50.