

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK SECANG (*Caesalpinia sappan L.*)
TERHADAP AKTIVITAS PERTUMBUHAN BIOFILM
BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DARI
ISOLAT ULKUS DIABETIKUM**



Oleh :
DELLA PUSPITA AYU
NIM : 2110262103

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**



a). Tempat/Tgl lahir: Rengat, 11-05-2002; b). Nama Orang Tua: (Ayah) Zainal (Ibu) Shinta Sulastri; c). Program Studi : Sarjana Terapan TLM; d). Fakultas: Ilmu Kesehatan; e). No NIM 2110262103; f). IPK: 3,93; i). Lama Studi: 4 Tahun; j). Alamat: Jl. Patimura, Kec. Rengat, Kab. Indragiri Hulu, Prov. Riau

PENGARUH EKSTRAK SECANG (*Caesalpinia sappan L.*) TERHADAP AKTIVITAS PERTUMBUHAN BIOFILM BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DARI ISOLAT ULKUS DIABETIKUM

SKRIPSI
Oleh:Della Puspita Ayu

Pembimbing: Putra Rahmadea Utami, S.Si., M.Biomed¹⁾ Meri Wulandari, S.S.T., M.Biotek²⁾

ABSTRAK

Ulkus diabetikum merupakan komplikasi kronis yang sering disertai infeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa*, bakteri oportunistik yang mampu membentuk biofilm dan meningkatkan resistensi terhadap terapi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) terhadap aktivitas pertumbuhan biofilm *P. aeruginosa* dari isolat ulkus diabetikum. Uji dilakukan menggunakan metode tabung dengan konsentrasi ekstrak (7%, 8%, 9%, 10%, dan 11%) dan dianalisis secara kuantitatif menggunakan Mean Gray Value melalui aplikasi ImageJ. Hasil menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan peningkatan nilai MGV, yang mengindikasikan penurunan biomassa biofilm secara signifikan ($p<0,05$). Konsentrasi 11% menjadi konsentrasi paling efektif dalam menghambat pembentukan biofilm. Dengan demikian, ekstrak kayu secang memiliki potensi sebagai agen antibiofilm alami untuk mendukung terapi luka kronis seperti ulkus diabetikum.

Kata kunci: secang, biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*, ulkus diabetikum

Skripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan lulus pada 24 Juli 2025 abstrak ini telah di setujui oleh penguji

Tanda Tangan	1.	2.	3.
Della Puspita Ayu	Putra Rahmadea Utami, S.Si., M.Biomed	Meri Wulandari, S.S.T., M.Biotek	Dr. Almurdzi, G.R.A.M.M., M.Kes

Mengetahui

Ketua Program Studi : Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Sc.





a). Place/Date of Birth: Rengat, 11-05-2002; b). Parents Name: (Father) Zainal (Mother) Shinta Sulastri; c). Study Program : TLM Applied Bachelor; d). Faculty: Health Sciences; e). NIM No. 2110262103; f). GPA: 3.93; i). Length of Study: 4 Years; j). Address: Jl. Patimura, Rengat District, Indragiri Hulu Regency, Riau Province

**THE EFFECT OF SAPPANWOOD (*Caesalpinia sappan L.*) EXTRACT
ON THE BIOFILM GROWTH ACTIVITY OF *Pseudomonas aeruginosa*
ISOLATED FROM DIABETIC ULCERS**

THESIS
By:Della Puspita Ayu

Supervisors: Putra Rahmadea Utami, S.Si., M.Biomed¹⁾ Meri Wulandari, S.S.T., M.Biotek²⁾

ABSTRACT

Diabetic ulcers are chronic complications often accompanied by infection from *Pseudomonas aeruginosa*, an opportunistic bacterium capable of forming biofilms and increasing resistance to treatment. This study aimed to determine the effect of (*Caesalpinia sappan L.*) extract on the biofilm growth activity of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from diabetic ulcers. The tube method was applied using extract concentrations (7%, 8%, 9%, 10%, and 11%), with quantitative analysis performed using Mean Gray Value via ImageJ software. Results showed that higher extract concentrations correlated with increased MGV values, indicating a significant reduction in biofilm biomass ($p<0.05$). The 11% concentration was the most effective in inhibiting biofilm formation. Therefore, (*Caesalpinia sappan L.*) extract has potential as a natural antibiofilm agent to support chronic wound therapies such as diabetic ulcers.

Keywords: sappanwood, biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*, diabetic ulcer

This thesis has been defended in front of the examiner session and will not pass in 24 July 2025 abstrak has been approved by the examiner.

Signature	1.	2.	3.

Della Puspita Ayu Putra Rahmadea Utami, S.Si., M.Biomed Meri Wulandari, S.S.T., M.Biotek Dr. Almurdi, DMM., M.Kes

Know

Head of Study Program : Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes merupakan salah satu masalah kesehatan global yang terus mengalami peningkatan setiap tahunnya. Data dari *International Diabetes Federation* (IDF) memperkirakan bahwa pada tahun 2024 terdapat sekitar 589 juta orang dewasa berusia 20 hingga 79 tahun yang hidup dengan diabetes di seluruh dunia. Jumlah ini diprediksi akan terus meningkat hingga mencapai 853 juta pada tahun 2050. Mayoritas kasus, yakni lebih dari 81%, berasal dari negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah, termasuk Indonesia. Di kawasan Pasifik Barat sendiri, jumlah penderita diabetes diperkirakan mencapai 215 juta pada tahun 2024 dan akan meningkat menjadi 254 juta pada 2050 (*International Diabetes Federation*, 2025).

Di Indonesia, prevalensi diabetes terus menunjukkan kenaikan selama satu dekade terakhir, dengan angka prevalensi mencapai 11,3% pada tahun 2024, setara dengan lebih dari 20 juta penderita. Kondisi ini menempatkan Indonesia dalam posisi lima besar negara dengan jumlah penderita diabetes tertinggi secara global. Peningkatan kasus diabetes meningkatkan risiko komplikasi kronis, khususnya gangguan vaskular dan saraf perifer, pencegahan serta penanganan komplikasi jangka panjang menjadi aspek penting dalam pengelolaan penyakit ini, khususnya komplikasi berupa ulkus diabetikum (*International Diabetes Federation*, 2025).

Ulkus diabetikum termasuk salah satu komplikasi kronis yang paling sering ditemukan pada pasien diabetes dan cenderung sulit sembuh. Penyebab utama

kondisi ini melibatkan kerusakan saraf tepi yang menyebabkan hilangnya sensasi, serta gangguan aliran darah yang menurunkan kemampuan jaringan untuk melakukan regenerasi. Luka kecil yang tidak disadari dapat berkembang menjadi ulkus terbuka yang terinfeksi. Proses penyembuhan berjalan lambat karena jaringan tidak menerima pasokan oksigen dan nutrisi yang cukup. Dalam banyak kasus, infeksi yang terjadi melibatkan mikroorganisme oportunistik yang mampu membentuk biofilm, sehingga memperkuat ketahanan bakteri terhadap antibiotik dan memperlama durasi luka. Kehadiran biofilm memperumit terapi konvensional dan sering kali menyebabkan ulkus diabetikum menjadi luka kronis yang sulit disembuhkan (Meena *et al.*, 2023).

Biofilm merupakan kumpulan bakteri yang tumbuh melekat pada permukaan luka dan terbungkus oleh lapisan pelindung berupa matriks ekstraseluler. Dalam kasus luka kronis seperti ulkus diabetikum, biofilm menjadi salah satu hambatan terbesar dalam proses pemulihan jaringan. Salah satu bakteri yang paling sering ditemukan dalam biofilm luka ini adalah *Pseudomonas aeruginosa*, yang dikenal memiliki kemampuan tinggi dalam membentuk biofilm dan resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Bakteri ini menghasilkan enzim dan toksin yang merusak jaringan, serta memperparah peradangan di sekitar luka. Kehadiran *Pseudomonas aeruginosa* dalam biofilm menyebabkan penurunan efektivitas terapi, baik secara topikal maupun sistemik. Oleh karena itu, identifikasi dan pengendalian biofilm yang melibatkan *Pseudomonas aeruginosa* menjadi langkah penting dalam perawatan ulkus diabetikum (Cavallo *et al.*, 2024).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu penyebab utama infeksi pada luka kronis, termasuk ulkus diabetikum. Bakteri ini dikenal memiliki kemampuan tinggi dalam membentuk biofilm, yaitu lapisan pelindung yang membuatnya jauh lebih tahan terhadap antibiotik dan sistem imun tubuh. Biofilm yang terbentuk memperkuat koloni bakteri dan menyebabkan pengobatan luka menjadi tidak efektif. Di lingkungan luka penderita diabetes yang umumnya lembap, kadar oksigen rendah, dan sirkulasi darah buruk, *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh dengan cepat dan mendominasi permukaan luka. Kondisi ini menyebabkan peradangan berlangsung terus-menerus dan memperlambat proses penyembuhan. Akibatnya, ulkus diabetikum cenderung memburuk dan berisiko mengalami komplikasi serius seperti infeksi sistemik atau amputasi (Garousi *et al.*, 2023).

Biofilm terdiri dari sel bakteri yang tertanam dalam matriks polymerik disebut EPS (*Extracellular Polymeric Substances*) yang melindungi mereka dari ancaman eksternal. Struktur ini sangat efektif menghalangi penetrasi antibiotik dan sel imun, serta menciptakan mikrolingkungan yang memberi keuntungan bagi bakteri. Sebagian besar biofilm pada luka kronis terdeteksi dalam 48–72 jam setelah kontaminasi, yang membuat infeksi cepat berkembang menjadi lebih sulit diatasi. Biofilm berkontribusi pada inflamasi kronis, merusak struktur jaringan, dan memperlambat fase proliferasi yang penting untuk penyembuhan luka. Keberadaan biofilm juga memicu resistensi antibiotik yang tinggi, bahkan pada dosis obat yang biasanya efektif terhadap bakteri planktonik. Kondisi ini menggarisbawahi

kebutuhan mendesak untuk strategi deteksi dan intervensi biofilm yang lebih cepat dan tepat guna meningkatkan hasil pengobatan ulkus diabetikum (Liu *et al.*, 2024).

Terapi luka kronis seperti ulkus diabetikum menjadi sangat menantang ketika infeksi disertai dengan pembentukan biofilm, karena keberadaan biofilm secara signifikan mengurangi efektivitas pengobatan standar seperti antibiotik. Antibiotik yang digunakan sering kali tidak mampu menembus matriks pelindung biofilm, sehingga bakteri di dalamnya tetap bertahan hidup meskipun pasien telah menjalani terapi berkali-kali. Terapi sistemik dapat menimbulkan efek samping dan meningkatkan risiko resistensi antimikroba jangka panjang. Kondisi ini diperburuk oleh keterbatasan obat topikal yang umumnya hanya bekerja pada permukaan luka tanpa menghilangkan biofilm secara menyeluruh. Oleh karena itu, strategi terapeutik terhadap luka kronis tidak hanya harus menargetkan bakteri, tetapi juga memecah struktur biofilm yang kompleks. Pendekatan ini memerlukan terapi yang lebih spesifik dan inovatif untuk mengatasi hambatan utama dalam penyembuhan luka, terutama pada pasien dengan ulkus diabetikum yang berisiko tinggi mengalami komplikasi serius (Ray *et al.*, 2025).

Keterbatasan terapi konvensional terhadap luka kronis yang disebabkan oleh infeksi biofilm, terutama pada pasien dengan ulkus diabetikum, mendorong perlunya pengembangan terapi alternatif yang lebih efektif dan aman. Pendekatan baru diperlukan untuk menargetkan biofilm secara langsung, bukan hanya bakteri planktonik. Hal ini penting mengingat kemampuan biofilm dalam mempertahankan kelangsungan hidup bakteri, menghambat penetrasi antibiotik, dan memicu respons inflamasi kronis pada jaringan luka. Salah satu strategi yang kini mulai banyak

dikembangkan adalah penggunaan agen antibiofilm dari sumber alami, yang tidak hanya bersifat antimikroba, tetapi juga memiliki kemampuan dalam mengganggu struktur dan fungsi biofilm. Terapi berbasis bahan alam dinilai lebih menjanjikan karena memiliki potensi efek samping yang lebih rendah dibandingkan antibiotik sintetis, serta mengandung berbagai senyawa aktif biofarmakologis. Oleh karena itu, pemanfaatan bahan alami sebagai alternatif terapi luka yang kompleks seperti ulkus diabetikum menjadi fokus penting dalam pengembangan pengobatan modern (Divakar *et al.*, 2019).

Kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di Asia Tenggara dan dikenal memiliki berbagai aktivitas farmakologis. Bagian terpenting dari tanaman ini adalah kayunya yang berwarna merah, yang mengandung senyawa aktif utama seperti brazilin, *brazilein*, dan *sappanchalcone*. Terdapat senyawa flavonoid lain seperti *protosappanin A*, *protosappanin B*, dan *homoisoflavonoid* yang berperan dalam aktivitas antibakteri dan antioksidan. Brazilin sebagai senyawa dominan diketahui memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan mengganggu pembentukan biofilm, terutama terhadap bakteri Gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*. Aktivitas antibiofilm tersebut dilakukan melalui mekanisme penghambatan *quorum sensing* dan penurunan produksi eksopolisakarida yang menjadi komponen utama matriks biofilm (Puttipan *et al.*, 2018).

Menurut (Dewantari, 2018), dilakukan pengujian terhadap ekstrak etanol kayu secang dengan konsentrasi bertingkat (7%, 8%, 9%, 10%, dan 11%) untuk

mengevaluasi penghambatan pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Hasilnya menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka nilai intensitas warna biofilm (*mean gray value*) juga meningkat, menandakan penurunan biomassa biofilm secara signifikan. Korelasi positif antara konsentrasi ekstrak dan nilai *Mean gray value* menunjukkan bahwa metode tabung efektif dalam mendeteksi kemampuan antibiofilm dari bahan alami secara kuantitatif.

Penelitian yang dilakukan oleh (Haibar *et al.*, 2025) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) mampu menghambat pembentukan biofilm oleh *Streptococcus sanguinis*, salah satu bakteri penghasil biofilm. Pada konsentrasi 1,56 mg/mL, ekstrak ini menunjukkan efektivitas yang sebanding dengan chlorhexidine gluconate 0,2%, yang merupakan standar antibiofilm. Efektivitas ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) ini diyakini berasal dari kemampuannya dalam menghambat adhesi bakteri serta merusak struktur matriks biofilm. Aktivitas antioksidan dari senyawa brazilin yang terkandung di dalamnya juga berperan dalam mengurangi stres oksidatif pada jaringan luka.

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik untuk mengevaluasi potensi antibiofilm ekstrak *Caesalpinia sappan L.* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dari isolat ulkus diabetikum dengan metode tabung berdasarkan pengukuran *Mean Gray Value* dengan Judul “Pengaruh Ekstrak Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap Aktivitas Pertumbuhan Biofilm Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dari Isolat Ulkus Diabetikum”.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun perumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah ada Pengaruh Ekstrak Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap Aktivitas Pertumbuhan Biofilm Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dari Isolat Ulkus Diabetikum?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Dalam penelitian yang akan dilaksanakan mempunyai tujuan umum yakni untuk mengetahui Pengaruh Ekstrak Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap Aktivitas Pertumbuhan Biofilm Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dari Isolat Ulkus Diabetikum.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini, yaitu:

1. Untuk mengidentifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang membentuk biofilm dari isolat ulkus diabetikum.
2. Untuk menentukan konsentrasi efektif ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) yang dapat mengurangi pertumbuhan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Manfaat penelitian bagi peneliti yakni untuk menambah wawasan dan memperdalam pengetahuan mengenai Pengaruh Ekstrak Secang (*Caesalpinia*

sappan L.) Terhadap Aktivitas Pertumbuhan Biofilm Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dari Isolat Ulkus Diabetikum dan meningkatkan keterampilan pada bidang Mikrobiologi.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Manfaat penelitian bagi institusi yakni untuk memberikan informasi kepada institusi pendidikan yang bertindak sebagai pemerhati bidang Mikrobiologi, untuk memperkaya kepustakaan dalam bidang Mikrobiologi mengenai Pengaruh Ekstrak Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Terhadap Aktivitas Pertumbuhan Biofilm Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dari Isolat Ulkus Diabetikum.

1.4.3 Bagi Tenaga Teknisi Laboratorium

Manfaat penelitian bagi tenaga teknisi laboratorium yakni untuk memberikan informasi terkait Pengaruh Ekstrak Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Terhadap Aktivitas Pertumbuhan Biofilm Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dari Isolat Ulkus Diabetikum.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Ekstraksi Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.)

Proses ekstraksi kayu secang yang dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% menunjukkan keberhasilan dalam memperoleh senyawa aktif dari bahan herbal. Warna merah pekat dari hasil ekstrak menunjukkan adanya senyawa brazilin, flavonoid, tanin, dan komponen fenolik lainnya yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm. Maserasi sebagai metode ekstraksi dipilih karena mampu mempertahankan senyawa bioaktif tanpa degradasi panas yang berlebihan. Pelarut etanol memiliki polaritas yang cukup baik untuk mengekstrak senyawa aktif seperti brazilin yang larut dalam alkohol. Keberhasilan ekstraksi ini menjadi langkah awal yang krusial dalam menghasilkan formulasi yang efektif untuk uji lanjut terhadap aktivitas biofilm. Hasil ini sejalan dengan temuan sebelumnya yang menyatakan bahwa metode maserasi dengan pelarut etanol mampu mengekstrak brazilin secara optimal dari kayu secang (Putri *et al.*, 2018).

Temuan ini diperkuat oleh hasil visual ekstrak secang yang menunjukkan konsistensi warna serta kestabilan bentuk cairan kental, menandakan tingginya kandungan senyawa aktif. Penampakan ekstrak yang homogen dan pekat mengindikasikan proses ekstraksi telah berjalan dengan baik dan tanpa kontaminasi. Keberadaan warna merah pada hasil ekstrak adalah indikator visual yang khas dari brazilin, pigmen utama pada kayu secang yang memiliki aktivitas biologis. Dengan demikian, ekstrak yang dihasilkan layak digunakan untuk uji lebih

lanjut terhadap aktivitas antibiofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Studi sebelumnya juga membuktikan bahwa warna merah dari hasil ekstrak kayu secang berkorelasi langsung dengan kandungan brazilin yang tinggi, yang merupakan senyawa penentu aktivitas antibakteri (Andayani, 2020).

Proses ekstraksi menggunakan etanol 96% sangat tepat digunakan dalam isolasi senyawa aktif dari kayu secang karena mampu melarutkan komponen bioaktif seperti brazilin tanpa merusak struktur kimianya. Brazilin merupakan senyawa utama yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri dan antibiofilm dari kayu secang. Senyawa ini termasuk golongan flavonoid yang diketahui dapat mengganggu dinding sel mikroba dan mencegah pembentukan matriks ekstraseluler biofilm. Penelitian terdahulu juga menunjukkan bahwa brazilin memiliki kemampuan dalam menurunkan produksi eksopolisakarida dan menghambat sistem quorum sensing pada bakteri patogen. Dengan demikian, keberhasilan ekstraksi dengan pelarut etanol tidak hanya menjamin keberadaan senyawa aktif, tetapi juga memastikan efektivitasnya dalam aplikasi sebagai agen antibiofilm. Hasil penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak etanol kayu secang menunjukkan aktivitas antibakteri kuat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri Gram-negatif lainnya (Putri *et al.*, 2018).

5.2 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dari Isolat Ulkus Diabetikum

Identifikasi bakteri melalui pengamatan morfologi koloni, pewarnaan Gram, dan uji biokimia menghasilkan gambaran karakteristik khas dari *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat bersifat Gram negatif berbentuk batang (basil) yang merupakan ciri khas utama dari

spesies ini. Koloni bakteri yang tumbuh pada media *Blood Agar Plate* tampak menghasilkan pigmen kehijauan yang menunjukkan produksi piocyanin dan pyoverdin, dua pigmen yang hanya diproduksi oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Uji biokimia seperti TSIA yang menunjukkan hasil K/K serta positif pada uji sitrat dan glukosa semakin menguatkan identifikasi spesies bakteri tersebut (Putri *et al.*, 2018)

Kombinasi hasil dari media selektif *Mac Conkey*, di mana koloni tampak transparan dan tidak memfermentasi laktosa, serta uji motilitas yang menunjukkan hasil positif semakin menguatkan bahwa isolat yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini dikenal memiliki sistem motilitas dan *quorum sensing* yang kompleks, yang berkontribusi terhadap kemampuan biofilm dan resistensi antibiotiknya. Hasil identifikasi ini sangat penting karena menjadi dasar dari pengujian antibiofilm yang dilakukan dalam penelitian ini. Semakin akurat proses identifikasi, semakin dapat dipercaya hasil dari uji ekstrak sebang terhadap bakteri target (Mulyati *et al.*, 2024).

Selain uji morfologi dan biokimia, identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dari ulkus diabetikum juga mengandalkan kemampuan membentuk biofilm, yang dapat diamati melalui uji tabung atau mikroplate dan deteksi faktor virulensi seperti gen *quorum sensing*. Kemampuan ini menjadi indikator penting karena sebagian besar isolat klinis yang teridentifikasi sebagai *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan kemampuan biofilm, memperkuat peran patogen ini dalam infeksi luka kronis. Produksi *piocyanin* dan *pyoverdin* tidak hanya digunakan sebagai petunjuk fenotipik, tetapi juga berhubungan dengan kemampuan kolonisasi dan

resistensi antibiotik. Oleh karena itu, mengonfirmasi isolat melalui visualisasi pigmen, uji biokimia, dan pengujian biofilm secara bersamaan memberikan validitas identifikasi yang kuat dan relevansi klinis yang tinggi (Yakout & Abdelwahab, 2022).

5.3 Pengaruh Ekstrak Kayu Secang terhadap Pembentukan Biofilm

Hasil pengamatan visual dan analisis *Mean Gray Value* (MGV) menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) secara nyata menghambat pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. MGV meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, dari nilai terendah pada kontrol (0%) hingga nilai tertinggi pada konsentrasi 11%. Peningkatan MGV mengindikasikan warna biofilm yang lebih terang, yang berarti lebih sedikit biofilm terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam kayu secang, terutama brazilin, efektif dalam menghambat pembentukan matriks ekstraseluler biofilm. Hasil ini memperkuat hipotesis bahwa ekstrak secang dapat mengganggu pembentukan struktur biofilm melalui penghambatan adhesi seluler dan matriks EPS (*extracellular polymeric substances*). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa brazilin mampu menghambat *quorum sensing*, mekanisme utama pembentukan biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa* (Miranda *et al.*, 2022).

Efektivitas ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) dalam menghambat biofilm juga ditunjukkan melalui perbedaan signifikan antar konsentrasi yang diuji. Konsentrasi 11% menunjukkan MGV tertinggi dan paling sedikit biofilm yang terbentuk, sedangkan kontrol menunjukkan pembentukan biofilm yang padat. Penurunan biofilm terjadi secara bertahap dan konsisten, menunjukkan bahwa efek

antibiofilm ekstrak bersifat dosis respons. Efek ini dapat dijelaskan oleh kemampuan senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak secang yang berperan dalam merusak membran sel bakteri dan mengganggu komunikasi antar sel (*quorum sensing*). Studi serupa menunjukkan bahwa flavonoid dalam tanaman herbal memiliki aktivitas yang kuat terhadap biofilm bakteri Gram negatif, termasuk *Pseudomonas aeruginosa* (Guzzo *et al.*, 2020).

Ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) terbukti efektif dalam menghambat pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*, dengan aktivitas yang meningkat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Senyawa seperti brazilin dan flavonoid diketahui menurunkan produksi eksopolisakarida (EPS) dan mengganggu jalur *quorum sensing*, sehingga menghalangi struktur matriks biofilm terbentuk secara penuh. Intervensi terhadap komunikasi seluler ini menyebabkan penurunan adhesi bakteri pada substrat dan mengurangi densitas biofilm terlihat dari hasil uji tabung serta pengamatan mikroskopis. Brazilin memiliki efek disruptif terhadap membran sel, yang melemahkan stabilitas koloni bakteri. Sebuah studi modern melaporkan bahwa ekstrak etanol kayu secang menunjukkan aktivitas antibakteri dan antibiofilm signifikan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, mendukung temuan penelitian ini bahwa tingkat hambatannya bersifat dosis *dependent* dan efektif untuk aplikasi klinis (Pattananandech *et al.*, 2022).

5.4 Analisis Statistik Pengaruh Konsentrasi terhadap *Mean Gray Value*

Uji statistik yang dilakukan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen, yang menjadi dasar dilakukannya uji parametrik

lebih lanjut. Hasil uji *Oneway ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan ekstrak kayu secang. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pada berbagai konsentrasi memang memberikan pengaruh yang nyata terhadap pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil ini memperkuat peran aktif senyawa-senyawa dalam ekstrak secang yang mempengaruhi secara biologis aktivitas pertumbuhan biofilm (Martínez *et al.*, 2024).

Uji lanjut menggunakan *Post Hoc Tukey HSD* menunjukkan bahwa perbedaan antara masing-masing konsentrasi bersifat signifikan. Tidak hanya perbandingan antara kontrol dan perlakuan yang menunjukkan perbedaan nyata, tetapi juga antar tiap konsentrasi ekstrak. Ini menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang memiliki efek dosis-respons yang konsisten terhadap biofilm. Semakin tinggi konsentrasi, semakin besar daya hambatnya terhadap pembentukan biofilm. Hal ini didukung oleh hasil uji korelasi *Pearson* yang menunjukkan hubungan yang sangat kuat dan signifikan antara peningkatan konsentrasi dengan peningkatan nilai MGV ($r = 0,898$, $p < 0,000$) (Miranda *et al.*, 2022).