



# HANG TUAH MEDICAL JOURNAL

[www.journal-medical.hangtuah.ac.id](http://www.journal-medical.hangtuah.ac.id)

---

## Research article

### Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak Sebagai Antibiofilm Terhadap *Candida Albicans* Penyebab Kandidiasis

WASILATUN NAJAHAH<sup>1</sup>, MASFUFATUN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pendidikan Dokter, Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup> Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya, Indonesia

Alamat email penulis korespondensi: masfufatun@uwks.ac.id.

#### Abstract

Curcuma (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) is a type of herbal plant that can be used to control infections from *C. albicans*, because it contains alkaloids, flavonoids, phenolics, saponins, triterpenoids, and glycosides. The purpose of this study is to analyze the effectiveness of temulawak rhizome ethanol extract as an antibiofilm against *Candida albicans*, which causes candidiasis. The research is purely experimental with a post-test control group only design. The extraction method used is maceration with 96% ethanol solvent, and the antibiofilm activity test uses the microtiter plate biofilm assay method. The measurement of Optical Density (OD) of the antibiofilm activity test results was carried out with a microplate reader at a wavelength of 595nm. The data was analyzed using SPSS. The results showed that Temulawak ethanol extract (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) had a significant effect on the formation of *C. albicans* biofilm ( $p<0.05$ ), with the highest inhibition at a concentration of 1.56%, and the smallest value at a concentration of 50%. The MBIC50 value was determined by probit analysis, so that the concentration of Temulawak ethanol extract (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*), which can inhibit 50% of the formation of *C. albicans* biofilm, is located at a concentration of 0.031%. Thus, it can be concluded that Temulawak rhizome ethanol extract has antibiofilm effectiveness against *C. albicans*, which causes candidiasis at the stage of biofilm formation. Thus, the ethanol extract of temulawak rhizome has the potential to be used as an herbal medicine for the treatment of infectious diseases caused by *C. albicans* biofilm.

**Keywords:** Temulawak Extract (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*), antibiofilm, *Candida albicans*.

## Abstrak

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) merupakan salah satu jenis tanaman herbal yang dapat digunakan untuk penanggulangan infeksi dari *C.albicans*, karena mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, dan glikosida. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis efektifitas ekstrak etanol rimpang temulawak sebagai antibiofilm terhadap *Candida albicans* penyebab kandidiasis. Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental murni dengan pendekatan *post test only control group* desain. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%, uji aktivitas antibiofilmnya menggunakan metode *microtiter plate biofilm assay*. Pengukuran Optical Density (OD) hasil uji aktivitas antibiofilm dilakukan dengan microplate reader pada panjang gelombang 595nm. Data dianalisis menggunakan SPSS untuk Windows V29.02. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) memiliki efektivitas secara signifikan terhadap pembentukan biofilm *C. albicans* ( $p<0.05$ ) dengan daya hambat tertinggi pada konsentrasi 1,56%, dan nilai terkecil pada konsentrasi 50%. Nilai MBIC<sub>50</sub> ditentukan dengan analisis probit, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) yang dapat menghambat 50% pembentukan biofilm *C. albicans* terletak pada konsentrasi 0,031%. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol rimpang temulawak memiliki efektifitas antibiofilm terhadap *C. albicans* penyebab kandidiasis pada tahap pembentukan biofilm. Dengan demikian, ekstrak etanol rimpang temulawak berpotensi dijadikan sebagai obat herbal untuk terapi penyakit infeksi akibat biofilm *C. albicans*.

Kata Kunci: Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*), antibiofilm, *Candida albicans*.

## PENDAHULUAN

Indonesia tergolong negara beriklim tropis yang ditandai dengan suhu udara tinggi dan kelembaban yang relatif tinggi sepanjang tahun. Kondisi lingkungan semacam ini menciptakan habitat yang mendukung pertumbuhan jamur patogen, termasuk *Candida albicans* (Novianti, 2016). Infeksi *C. albicans* dapat terjadi bila jumlahnya melebihi batas normal sehingga timbul kelainan yang dapat kita sebut kandidiasis.

Infeksi yang disebabkan oleh jamur dari genus *Candida*, khususnya *C. albicans*, dikenal dengan istilah kandidiasis. Di wilayah Indonesia, kejadian kandidiasis cukup signifikan, terutama pada kelompok perempuan, dengan tingkat prevalensi yang dilaporkan mencapai 20–25% (Puspitasari *et al.*, 2019). Kemampuan patogenik *C.*

*albicans* berkaitan erat dengan berbagai faktor virulensinya, salah satunya adalah kemampuannya dalam membentuk biofilm (Noor, 2013).

*C. albicans* ditunjang keberadaannya oleh sel ragi, pseudohifa, dan hifa. Dimana dalam pembentukan biofilm diawali dengan adhesi sel ragi ke permukaan yang sesuai (Silva-Dias *et al.*, 2015; Chong *et al.*, 2019; McCall *et al.*, 2019). Setelah tahap adhesi, biofilm mengalami perkembangan yang ditandai dengan perubahan dalam morfologi dan jumlah sel, serta sekresi zat polimer ekstraseluler dan produksi Ekstraselular Polimerik Substansi (EPS) (Zarnowski *et al.*, 2014). Tahap selanjutnya adalah dispersal, yang merupakan tahap akhir dari siklus hidup biofilm, di mana sel-sel dilepaskan dari biofilm yang telah matang untuk menyebar dan membentuk infeksi sekunder di tempat lain (Ponde *et al.*, 2021; Uppuluri *et al.*, 2017). Mengingat meningkatnya resistensi terhadap agen antijamur konvensional, maka pencarian terapi alternatif menjadi penting, khususnya yang mampu menghambat proses pembentukan biofilm *C. albicans*. Salah satu pendekatan yang potensial adalah pemanfaatan senyawa bioaktif dari tanaman herbal.

Penerapan tanaman obat sebagai obat antijamur telah diakui memberikan efek menguntungkan pada kesehatan manusia. Salah satu tumbuhan dengan atribut yang berpotensi adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), yang diketahui mampu berperan dalam mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans*, berkat kandungan senyawa antibiotic (Adila & Nurmiati, 2013). Secara kualitatif, temulawak mengandung berbagai komponen seperti air, minyak atsiri, pati, serat, abu, alkohol, serta kurkumin. Selain itu, analisis fitokimia menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, senyawa fenolik, saponin, triterpenoid, dan glikosida (Tetan-el, 2014). Diantara komponen tersebut yang berpotensi menghambat pembentukan biofilm adalah kurkumin, fenolik, flavonoid dan saponin.

Pada penelitian ini, Temulawak yang digunakan berasal dari desa Pandhiangan, kecamatan Robatal, Sampang. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari aktivitas antibiofilm ekstrak rimpang temulawak sebagai agen alternatif yang dapat menghambat pembentukan biofilm *Candida albicans*.

## METODE PENELITIAN

### Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan kerangka eksperimental sejati (*true experimental design*) yang menggunakan metodologi *post-test control group design*, menargetkan analisis dampak ekstrak etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) pada pembentukan biofilm *C. albicans*. Pelaksanaan penelitian telah disetujui oleh komite etik.

### Analisis statistik

Data dianalisis menggunakan SPSS untuk Windows V29.02 untuk menguji pengaruh ekstrak etanol rimpang temulawak terhadap *C. albicans* penyebab kandidiasis menggunakan uji Kruskal-Wallis, Post Hoc, dan analisis probit.

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Prosedur pembuatan ekstrak rimpang temulawak dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Bersamaan dengan itu, antibiofilm ekstrak etanol rimpang temulawak terhadap *C. albicans* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga antara Februari 2024 dan Mei 2024.

### Alat dan bahan

Penelitian ini menggunakan berbagai instrumen laboratorium, di antaranya *microplate* 96 sumur berbentuk U (*U-bottom*), pembaca *microplate* (*microplate reader*), pembersih ultrasonik (*ultrasonic cleaning bath*), evaporator vakum putar (*rotary vacuum evaporator*), *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, shaker, peralatan ekstraksi, labu Erlenmeyer, inkubator atau oven, timbangan analitik, gelas ukur, mikroskop, spektrofotometer, kuvet, tabung reaksi, kaca objek, cawan petri, ose, pembakar Bunsen, pengatur waktu (timer), pipet tetes, mikropipet, kain lap atau tisu, serta blender. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*), larutan lugol, crystal violet, safranin, 96% etanol, air

suling (aquades), minyak imersi, larutan PBS, dan media kultur seperti *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB), dan RPMI, dan juga antijamur Konazol. Bahan tambahan termasuk aluminium foil, kertas saring, kapas, dan disposable tips berwarna biru dan kuning.

### **Uji Determinasi**

Proses identifikasi determinasi terhadap tanaman temulawak dilaksanakan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica, yang berada di bawah naungan Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, berlokasi di Batu-Malang. Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk memverifikasi bahwa spesimen tanaman yang digunakan dalam penelitian benar merupakan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Bagian tanaman yang menjadi objek determinasi adalah rimpangnya.

### **Ekstraksi Temulawak**

Ekstraksi rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dilakukan melalui teknik maserasi. Selama fase ini, temulawak direndam dalam pelarut etanol 96% di dalam bejana maserasi sampai semua bagian sepenuhnya direndam. Wadah kemudian ditutup rapat dan didiamkan selama 72 jam (3×24 jam) pada suhu ruang untuk memungkinkan proses ekstraksi berlangsung secara optimal. Setiap 24 jam dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Hasil filtrasi dikumpulkan jadi satu dan selanjutnya dievaporasi pada rotary evaporator pada suhu 70<sup>0</sup> Celcius sehingga dihasilkan ekstrak kental temulawak (Utara, 2014).

### **Pembuatan Larutan Induk Esktrak Dan Pengenceran Konsentrasi Ekstrak Rimpang Temulawak**

Ekstrak induk diperoleh dengan mengambil hasil ekstrak rimpang temulawak yang telah melalui proses dengan konsentrasi akhir sebesar 100%. Sebanyak 500 uL dilarutkan dengan media RPMI (Roswell Park Memorial Institute) sebanyak 500 uL dalam microtube sehingga volume larutan 1 ml. Kemudian dilakukan pengenceran berseri dengan menggunakan larutan ekstrak rimpang temulawak 100%. Enam microtube diisi dengan 500 uL media RPMI. Pada microtube pertama, 500 uL larutan

ekstrak rimpang temulawak 100% ditambahkan, dan kemudian dihomogenkan hingga konsentrasi ekstrak rimpang temulawak 50%. Sebanyak 500 $\mu$ L larutan ekstrak rimpang temulawak 50% diambil, dan dimasukkan ke dalam microtube ke-2 sehingga diperoleh konsentrasi 25% dengan menghomogenkannya. Lakukan prosedur yang sama sampai microtube ke-6 sehingga konsentrasi larutan ekstrak rimpang temulawak menjadi 12,50%, 6,25%, 3,13%, dan 1,56%.

### **Regenerasi *C. albicans***

Langkah untuk meregenerasi isolat *C. albicans*, dengan menyiapkan media SDA (Sabouraud Dextrose Agar) digunakan untuk membuat stok *C. albicans*. Ini dilakukan dengan menginokulasi dan menggoreskan 1 jarum ose biakan murni *C. albicans* dalam media SDA baru. Kemudian, jamur diinkubasi dalam inkubator selama 2-3 hari pada suhu 37°C (Safitri & Tukiran, 2020).

### **Pembuatan Suspensi *C. albicans***

Koloni tunggal *C. albicans* pada SDA dimasukkan ke dalam labu *Erlenmeyer* yang berisi 10 ml SDB (Sabouraud Dextrose Broth). Labu *Erlenmeyer* dishaker selama 18-24 jam dengan kecepatan 120 rpm sehingga dihasilkan inokulum. Selanjutnya inokulum dimasukkan ke tabung sentrifus untuk memisahkan *pallet* dari media. Pallet yang terbentuk dipisahkan dari media supernatant melalui proses sentrifugasi, kemudian dilakukan resuspensi menggunakan larutan PBS. Proses ini diulang sebanyak dua kali guna memperoleh suspensi sel yang lebih murni. Pada ulangan ketiga, *pallet* diresuspensi dengan media RPMI. Suspensi yang dihasilkan kemudian diukur (*Optical Density*) OD-nya dengan *ELISA* redaer hingga mendapatkan nilai 0,5 setelah dikurangi blanko. Suspensi *C. albicans* ini siap digunakan untuk uji pada tahap berikutnya (Rahmawati, 2017).

### **Uji Aktivitas Antibiofilm Pada Tahap Pembentukan Biofilm**

Pembentukan biofilm oleh *C. albicans* dimulai dari fase pelekatan sel terhadap permukaan. Dalam uji penghambatan pembentukan biofilm, digunakan 100  $\mu$ L suspensi sel *C. albicans* sebagai tahapan awal, dimasukkan pada tiap sumuran dimulai dari kolom kelompok perlakuan (kolom 1-6), kolom kontrol positif (kolom 9),

kolom kontrol negatif (kolom 10), kecuali kolom blanko pada kolom A-D. Microplate ditutup dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2 jam untuk tahap perlekatan. Setelah masa inkubasi selesai, plat dicuci dua kali menggunakan PBS untuk menghilangkan sel-sel yang tidak melekat. Selanjutnya pada kolom perlakuan ditambahkan ekstrak rimpanng temulawak dengan konsentrasi 50%, 25%, 12.50%, 6.25%, 3.13%, 1.56% sebanyak 100  $\mu$ L, pada kolom kontrol ditambahkan masing-masing 100  $\mu$ L *fluconazole* sebagai kontrol positif dan 100  $\mu$ L media RPMI sebagai kontrol negatif.

Pembentukan biofilm selanjutnya dicapai dengan menginkubasi pelat mikro yang tertutup rapat dalam inkubator yang diatur pada 37°C selama 48 jam. Setelah menyelesaikan inkubasi, pelat mikro mengalami dua kali pencucian dengan larutan PBS untuk menghilangkan sel yang tidak berikatan. Biofilm yang dihasilkan kemudian difiksasi menggunakan metanol selama 10 menit dan kemudian dikeringkan dengan suhu ruang.

Setelah permukaan *microplate* benar-benar kering, sebanyak 50  $\mu$ L larutan kristal violet 1% ditambahkan ke masing-masing sumur untuk memberikan pewarnaan terhadap biomassa biofilm. Pewarnaan dilakukan dengan menginkubasi pelat mikro pada suhu sekitar selama 30 menit. Setelah ini, larutan berlebih dibuang, dan pelat mikro dicuci tiga kali dengan PBS untuk membasmikan pewarna bebas dan sel yang tidak terikat. Setelah prosedur pencucian, pelat mikro dikeringkan kembali pada suhu kamar. Selanjutnya, 200  $\mu$ L etanol 96% dimasukkan ke setiap sumur dan diinkubasi selama satu jam pada suhu kamar untuk mengekstrak pewarna yang diserap oleh biofilm. Pengukuran OD dilakukan dengan menggunakan pembaca pelat mikro pada panjang gelombang 595 nm (Abidah, 2020; Zhu *et al.*, 2023).

### **Penentuan Nilai MBIC<sub>50</sub>**

Penetapan nilai MBIC<sub>50</sub> (Minimum Biofilm Inhibitory Concentration) dilakukan dengan menghitung persentase penghambatan berdasarkan data absorbansi yang dihasilkan dari pengukuran (Nugrahani *et al.*, 2025). Selanjutnya, analisis nilai MBIC<sub>50</sub> dilakukan menggunakan metode analisis melalui perangkat lunak SPSSprobit. Nilai

MBIC<sub>50</sub> merepresentasikan konsentrasi minimal dari ekstrak etanol rimpang *Curcuma xanthorrhiza* yang mampu menghambat pembentukan biofilm *C. albicans* sebesar 50%.

## HASIL PENELITIAN

Setelah melalui proses determinasi temulawak, 11 Kg temulawak dilakukan proses pencucian, pengupasan dan dipotong kecil-kecil, dikeringkan, serta dihaluskan. Proses ekstraksi dilakukan melalui metode maserasi dengan menggunakan 500 gram simplisia rimpang *Curcuma xanthorrhiza*, yang direndam dalam pelarut etanol 96%. Ekstrak yang dihasilkan menunjukkan karakteristik berupa warna coklat pekat, tingkat kental tinggi, serta aroma khas herbal. Rendemen ekstrak yang diperoleh dari proses ini mencapai 26,10%. Kemudian dilakukan uji aktivitas antibiofilm dengan hasil yang diperoleh pada Tabel 1 dibawah ini :

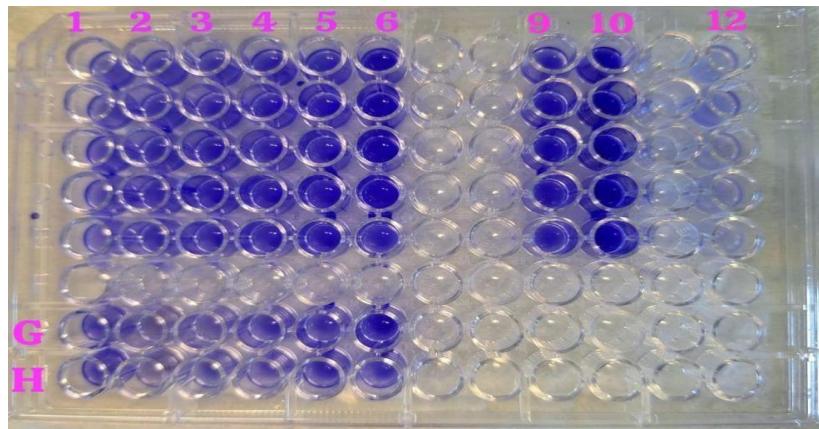
**Tabel 1. Hasil Nilai OD Penghambatan Pembentukan Biofilm *C. albicans***

Replikasi	Konsentrasi Ekstrak Temulawak						K(+)	K(-)
	50%	25%	12,50 %	6,25%	3,13%	1,56%		
A	1,06	1,07	0,59	0,76	0,98	0,86	1,4	3,24
B	1,17	0,95	1,57	1,2	0,94	0,86	1,47	3,22
C	0,36	1,09	0,33	1,18	1,09	1,46	1,18	3,22
D	0,77	0,82	0,45	1,46	1,25	1,59	1,49	3,2
Rerata	0,84	0,98	0,74	1,15	1,07	1,19	1,38	3,22
SD	0,32	0,11	0,49	0,25	0,12	0,33	0,12	0,01
%Pencegahan	73,93	69,46	77,18	64,29	66,79	62,97	57,01	0
%Inhibisi	26,07	30,54	22,82	35,71	33,21	37,03	42,99	0

Keterangan:

- OD : Optical Density
- SD : Standart Deviasi
- K (+) : Pemberian terapi flukonazol
- K (-) : Pemberian RPMI
- A - D : Replikasi Biofilm *C.albicans*

Berdasarkan Tabel 1 didapatkan hasil dari empat replikasi nilai mean OD tertinggi pada kelompok perlakuan 1,56% (1,19), dan nilai mean OD terendah di kelompok perlakuan konsentrasi 12,50 % (0,74). Selanjutnya dilakukan uji kruskal-wallis untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.



**Gambar 2 : Hasil Uji CV Matriks Biofilm *C. albicans***

Berdasarkan gambar 2 didapatkan hasil pada kolom 10 (K-) kristal violet berwarna ungu pekat (paling ungu). Sedangkan pada kelompok uji kolom 1 (konsentrasi 50%) didapatkan kristal violet berwarna ungu pudar dan pada kolom 6 (konsentrasi 1,56%) didapatkan kristal violet berwarna ungu pekat. Dari data deskriptif akan dilakukan uji Kruskal-Wallis sebagai berikut

**Tabel 2 : Hasil Uji Kruskal-Wallis**

Optical Density	
Kruskal-Wallis H	16.882
df	7
Asymp. Sig.	.018

- i. Kruskal Wallis Test
- ii. Grouping Variable: Konsentrasi Ekstrak Temulawak

Berdasarkan tabel 2 didapat nilai Asymp.sig <0.05 maka ditarik kesimpulan bahwa  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Selanjutnya dilakukan uji *post hoc* untuk

mengevaluasi adanya perbedaan antar kelompok perlakuan, yang hasilnya disajikan pada tabel dan gambar berikut:

**Tabel 3 : Hasil Uji Post Hoc Tahap Pembentukan**

Kelompok	K(-)	K(+)	1.56%	3.13%	6.25%	12.50%	25%	50%
<b>K (-)</b>		<b>0.001*</b>	<b>0.012*</b>	<b>0.000*</b>	<b>0.005*</b>	<b>0.019*</b>	<b>0.000*</b>	<b>0.006*</b>
<b>K(+)</b>	0.001*		0.964	0.158	0.802	0.490	0.055	0.301
<b>1.56%</b>	0.012*	0.964		0.996	1.000	0.856	0.942	0.860
<b>3.13%</b>	0.000*	0.158	0.996		0.998	0.915	0.977	0.909
<b>6.25%</b>	0.005*	0.802	1.000	0.998		0.864	0.937	0.856
<b>12.50%</b>	0.019*	0.490	0.856	0.915	0.864		0.974	1.000
<b>25%</b>	0.000*	0.055	0.942	0.977	0.937	0.974		0.988
<b>50%</b>	0.006*	0.301	0.860	0.909	0.856	1.000	0.988	

Berdasarkan Uji Post Hoc menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan konsentrasi 50%, 25%, 12.50%, 6.25%, 3.13% dan 1,56% tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan K(+) , namun memiliki perbedaan signifikan dengan K(-).

**Tabel 4. Analisis Statistik Uji Probit**

PROBIT	Probability	Confidence Limits			
		95% Confidence Limits for Konsentrasi Ekstrak Temulawak		95% Confidence Limits for log(Konsentrasi Ekstrak Temulawak) <sup>a</sup>	
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate
.010	.000	.	.	.	-12.901
.020	.000	.	.	.	-11.566
.030	.000	.	.	.	-10.719
.040	.000	.	.	.	-10.082
.050	.000	.	.	.	-9.564
.060	.000	.	.	.	-9.123
.070	.000	.	.	.	-8.736
.080	.000	.	.	.	-8.390
.090	.000	.	.	.	-8.075
.100	.000	.	.	.	-7.785
.150	.000	.	.	.	-6.584
.200	.000	.	.	.	-5.630
.250	.000	.	.	.	-4.812
.300	.000	.	.	.	-4.077
.350	.000	.	.	.	-3.396
.400	.002	.	.	.	-2.750
.450	.008	.	.	.	-2.125
.500	.031	.	.	-1.509	.
.550	.128	.	.	-.894	.
.600	.539	.	.	-.269	.
.650	2.385	.	.	.377	.
.700	11.441	.	.	1.058	.
.750	62.146	.	.	1.793	.
.800	409.071	.	.	2.612	.
.850	3678.992	.	.	3.566	.
.900	58343.319	.	.	4.766	.
.910	113734.140	.	.	5.056	.
.920	234869.983	.	.	5.371	.
.930	521335.453	.	.	5.717	.
.940	1270189.892	.	.	6.104	.
.950	3507200.945	.	.	6.545	.
.960	11566100.869	.	.	7.063	.
.970	50151088.867	.	.	7.700	.
.980	352521032.58	.	.	8.547	.
.990	7620993829.0	.	.	9.882	.

a. Logarithm base = 10.

Berdasarkan tabel 4 hasil analisis menggunakan probit, diketahui bahwa konsentrasi ekstrak temulawak yang mampu menghambat pembentukan biofilm *C. albicans* ialah di konsentrasi 50% yakni sebesar 0,031%.

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, Determinasi tanaman temulawak dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Batu-Malang. Berdasarkan hasil determinasi, sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini teridentifikasi sebagai *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Prosedur ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, menghasilkan ekstrak yang berwarna coklat pekat, bertekstur kental, dan memiliki aroma khas yang menyerupai jamu tradisional. Dimana rendemen ekstrak rimpang temulawak pada penelitian ini menghasilkan sekitar 26,10%. Hasil ini jauh lebih tinggi daripada hasil dalam penelitian oleh Pratiwi *et al.* (2018) yang mendapatkan rendemen sekitar 12%, hal ini kemungkinan karena menggunakan usia rimpang yang berbeda dan kondisi pengeringan serta perbedaan waktu maserasi. Pada penelitian ini menggunakan waktu yang cukup lama yaitu 3 x 24 jam untuk penarikan aktif dalam keadaan dingin sehingga dapat menghasilkan ekstrak yang lebih tinggi rendemennya dan kaya akan senyawa bioaktif.

Hasil pengukuran nilai OD yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai OD tertinggi ditemukan pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 1,56%, yaitu sebesar 1,19. Hal ini mengindikasikan bahwa pembentukan biofilm *Candida albicans* paling intensif terjadi pada konsentrasi tersebut, serta mencerminkan efektivitas hambatan yang paling rendah. Sebaliknya, nilai OD terendah tercatat pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 12,50%, yakni sebesar 0,74, yang menunjukkan bahwa pembentukan biofilm berada pada tingkat paling minimal dan daya hambat terhadap biofilm berada pada tingkat tertinggi.

Berdasarkan Tabel 2 didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yg signifikan antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol K (+). Dimana Hanya kelompok kontrol K (-) yang memiliki perbedaan signifikan. Hal ini terjadi karena pada kelompok perlakuan diberikan campuran candida dg OD -+ 100 uL, ekstrak dan RPMI. Pada kontrol K (+) diberikan flukonazol sedangkan pada kelompok kontrol K (-) hanya menggunakan RPMI.

Berdasarkan Tabel 4 yaitu presentase penghambatan pembentukan matriks biofilm *C. albicans* diperoleh nilai MBIC50 pada konsentrasi 0,031%. Nilai MBIC50 ini jauh lebih rendah daripada penelitian sebelumnya yang dilakukan dengan ekstrak kunyit Sofiyanti (MBIC50 sebesar 57,6%) dan Ria Puspitawati (MBIC50 sebesar 15-45%) (Komariah *et al.*, 2023). Perbedaan ini terjadi karena kandungan senyawa yang terdapat pada temulawak dan kunyit berbeda. Kunyit termasuk dalam famili *Zingiberaceae*, merupakan tanaman herbal yang mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti senyawa fenolik (kurkuminoid), terpenoid (minyak atsiri seperti zingiberon, atlanton, dan tumeron), serta komponen lain seperti gula, protein, dan resin. Kombinasi senyawa tersebut memberikan berbagai manfaat farmakologis, termasuk aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antijamur, antimutagenik, antimikroba, serta mempercepat proses penyembuhan (Alsamydai & Jaber, 2018). Sementara itu, komponen utama yang terkandung dalam rimpang temulawak meliputi pati, kurkuminoid, dan minyak atsiri(Ulaen, Banne and Suatan, 2012). Minyak atsiri temulawak yang berasal dari Indonesia diketahui mengandung senyawa dominan seperti α-kurkumen (22,11%), β-kurkumen (23,39%), kurzeren (6,02%), kamfer (4,98%), dan xanthorrhizol (Septama, et al., 2022). Dengan demikian, perbedaan komposisi kimiawi antar ekstrak dapat berkontribusi terhadap variasi efektivitas dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*, terutama pada konsentrasi minimum yang digunakan dalam uji aktivitas antijamur.

Pada hasil pengamatan uji aktivitas antibiofilm terhadap pembentukan Biofilm pada gambar 2 menggunakan Kristal Violet pada kolom 10 (K-) didapatkan hasil kristal violet berwarna ungu pekat (paling ungu). Sedangkan pada kelompok uji kolom 1 (konsentrasi 50%) didapatkan kristal violet berwarna ungu pudar dan pada kolom 6

(konsentrasi 1,56%) didapatkan kristal violet berwarna ungu pekat. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin rendah kepadatan biomassa biofilm (intensitas warna memudar) dan semakin rendah konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi kepadatan biomassa biofilm (intensitas warna pekat). Hal ini menunjukkan semakin banyak matriks biofilm yang terbentuk dan tidak terdegradasi

## KESIMPULAN

Berdasarkan temuan dalam penelitian ini, ekstrak etanol dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) menunjukkan aktivitas antibiofilm terhadap *Candida albicans* pada fase awal pembentukan biofilm. Efek penghambatan tertinggi tercatat pada konsentrasi 50%, sedangkan nilai penghambatan terendah terdapat pada konsentrasi 1,56%. Nilai MBIC<sub>50</sub> yang diperoleh adalah sebesar 0,031%. Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol temulawak memiliki potensi sebagai kandidat alternatif untuk penanganan infeksi yang berkaitan dengan pembentukan biofilm oleh *C. albicans*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidah, H.Y. ,2020 ‘Uji aktivitas antibiofilm ekstrak daun murbei hitam (*Morus nigra* L.) terhadap biofilm *Escherichia coli*’, *Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*, 1–160.
- Adila, R., Nurmiati, A.A., 2013. Uji Antimikroba Curcuma spp. Terhadap Pertumbuhan, 10, 2, 143–157. Available at: <https://doi.org/doi: 10.26877/bioma.v10i2.6371>.
- Alsamydai, A. and Jaber, N., 2018. Pharmacological Aspects of Curcumin: a Review’, *International Journal of Pharmacognosy* 313 IJP, 5, 6, 313–326. Available at: [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.5\(6\).313-26](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.5(6).313-26).
- Chong, P.P. *et al.*, 2019. The microbiome and irritable bowel syndrome - A review on the pathophysiology, current research and future therapy, *Frontiers in Microbiology*, 10, 1–23. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01136>.
- Komariah, N. *et al.*, 2023. Upaya Pengurangan Nyeri Punggung pada Ibu Hamil dengan Massage Effleurage’, 4, 4, 2043–2047.
- McCall, A.D. *et al.*, 2019. *Candida albicans* biofilm development is governed by cooperative attachment and adhesion maintenance proteins’, *npj Biofilms and Microbiomes*, 5, 1, 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0094-5>.

- Nugrahani, N. A., Nurilyana, M. M., Faizal, I. A., Kholifa, M., & Hafizi, I., 2025. Efficacy of avocado seed extract in preventing, inhibiting, and eliminating *Prevotella intermedia* biofilms: An in vitro study. *Veterinary World*, 408–418. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2025.408-418>
- Noor C, P. dan T.I., 2013. Kajian Molekuler Resistensi *Candida albicans* Terhadap Antifungi. Anal. pendapatan dan tingkat Kesejaht. rumah tangga petani, 53, 9, pp. 1689–1699.
- Novianti, 2016. Kemampuan Antifungi Elkstrak Rimpang Temulawak (*Culrculma xanthorrhiza*) Terhadap *Candida albicans*.<sup>1</sup>
- Ponde, N.O. *et al.*, 2021. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions', *Critical Reviews in Microbiology*, 47,1, 91–111. Available at: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1843400>.
- Pratiwi, H., Ari Yusasrini, N.L. and Kencana Putra, I.N., 2018. Pengaruh ph ekstraksi terhadap rendemen, sifat fisiko-kimia dan fungsional konsentrasi protein kacang gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7, 1, 1. Available at: <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i01.p01>.
- Puspitasari, A. *et al.*, 2019. Profil Pasien Baru Kandidiasis (Profile of New Patients of Candidiasis)', *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 31, 1, 24–34.
- Rahmawati, 2017. Potensi Anti Jamur Isolat Bakteri Endofit Akar *Vetiveria Zizanioides* dan *Ageratum Conyzoides* Terhadap *Candida albicans*, *Universitas Pendidikan Indonesia*, 29–38.
- Safitri, F.N. and Tukiran., 2020. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Jambu Semarang ( *Syzygium samarangense* ) terhadap *Candida albicans* Antifungal Activities Of Dichloromethane Extracts Of Jambu Semarang Stem Bark ( *Syzygium samarangense* ) On The *Candida albicans*, *UNESA Journal of Chemistry*, 9, 2, 111–115.
- Septama, A.W., Tasfiyati, A.N., Kristiana, R., dan Jaisi, A. (2022) 'Chemical Profiles Of Essential Oil From Javanese Turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), Evaluation Of Its Antibacterial and Antibiofilm Activities Against Selected Clinical Isolates, *South African Journal of Botany*, 146, pp. 728–734.
- Silva-Dias, A. *et al.* , 2015. Adhesion, biofilm formation, cell surface hydrophobicity, and antifungal planktonic susceptibility: Relationship among *Candida* spp., *Frontiers in Microbiology*, 6(MAR). Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00205>.
- Tetan-el, D., 2014. Diameter Zona Hambat dan Efektifitas Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) terhadap Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* di Dalam Mulut', *Universitas Hasanudin* [Preprint].
- Ulaen, S., Banne, Y. and Suatan, R., 2012. Pembuatan Salep Anti Jerawat Dari Ekstrak

- Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)', *Jurnal Ilmiah Farmasi Poltekkes Manado*, 3, 2, 45–49. Available at: <https://www.neliti.com/publications/96587/pembuatan-salep-anti-jerawat-dari-ekstrak-rimpang-temulawak-curcuma-xanthorrhiza#cite>.
- Uppuluri P, Busscher HJ, Chakadar J, van der Mei HC, C.L., 2017. Profil Transkripsional Dari *C.albicans* Dalam Biofilm Dula Spesies Delngan *Rothia dentocariosa*', *Mikrobial Infeksi Sel Depan*, 7, 311.
- Utara, U., 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Salah Satu Bakteri Bau Mulut *Porphyromonas gingivalis*.
- Zarnowski, R. *et al.*, 2014. Novel entries in a fungal biofilm matrix encyclopedia, *mBio*, 5, 4, 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1128/mBio.01333-14>.
- Zhu, X. *et al.*, 2023. Anti-Biofilm Activity of Cocultimycin A against *Candida albicans*', *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 23. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms242317026>.