

Efek Saponin Terhadap Penghambatan Planktonik Dan Mono-Spesies Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 Pada Fase Pertengahan, Pematangan Dan Degradasi

The Effect of Saponins on the Inhibition of Planktonic and Biofilm Mono-Species Candida albicans ATCC 10231 in The, Middle, Maturation and Degradation phase

Hasyrul Hamzah^{1*}, Triana Hertiani², Sylvia Utami Tunjung Pratiwi², Titik Nuryastuti³

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur

² Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

³ Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada

Corresponding author: Triana Hertiani; Email: hertiani@ugm.ac.id

Submitted: 24-02-2020

Revised: 09-07-2020

Accepted: 12-08-2020

ABSTRAK

Saponin merupakan salah satu jenis metabolit sekunder dari tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri namun aktivitas antibiofilmnya terhadap *C. albicans* ATCC 10231 belum pernah dilaporkan. Penemuan kandidat antibiofilm baru terhadap biofilm *C. albicans* menjadi tantangan yang harus di atasi dalam mencegah infeksi yang berhubungan dengan biofilm. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas saponin dalam menghambat dan mendegradasi *C. albicans* ATCC 10231. Pengujian planktonik, penghambatan biofilm dan pengujian degradasi biofilm ditentukan dengan menggunakan metode *microtiter broth*. efektivitas antibiofilm saponin terhadap biofilm dianalisis dengan menghitung *minimum biofilm inhibitor konsentrasi* (MBIC₅₀) dan *nilai minimum biofilm eradication concentration* (MBEC₅₀). Senyawa saponin 1 % memberikan aktivitas penghambatan pada fase planktonik *C. albicans* sebesar 79,48 % ± 0,01, fase pertengahan biofilm sebesar 56,00 % ± 0,02, fase pematangan 35,55 ± 0,03 Hasilnya juga memberikan bukti aktivitas saponin dapat mendegradasi 50 % biofilm *C. albicans* sebesar 51,03 ± 0,01. Oleh karena itu, senyawa saponin potensial untuk dikembangkan sebagai kandidat obat-obat antibiofilm baru terhadap biofilm *C. albicans*.

Kata kunci: Saponin; Biofilm; Planktonik; *C. albicans*

ABSTRACT

Saponin is one of the secondary metabolites of plants that have antibacterial activity but the antibiofilm activity against *C. albicans* ATCC 10231 has never been reported. The discovery of new antibiofilm candidates for *C. albicans* biofilms is a challenge that must be overcome in preventing infections related to biofilms. This study aims to determine the effectiveness of saponins in inhibiting and degrading *C. albicans* ATCC 10231. Planktonic testing, biofilm inhibition and biofilm degradation testing were determined using the microtiter broth method. the effectiveness of antibiofilm saponin on biofilms was analyzed by calculating the minimum biofilm concentration inhibitor (MBIC₅₀) and the minimum value of biofilm eradication concentration (MBEC₅₀). Saponin 1 % compound gives inhibitory activity in the planktonic phase of *C. albicans* at 79.48% ± 0.01, mid phase biofilm at 56.00 % ± 0.02, maturation phase 35.55 ± 0.03 The results also provide evidence of activity saponins can degrade 50 % biofilm *C. albicans* by 51.03 ± 0.01. Therefore, saponin compounds are potential to be developed as candidates for new antibiofilm drugs against *C. albicans* biofilms.

Keywords: Saponin; Biofilm; Planktonik; *C. albicans*

PENDAHULUAN

Berdasarkan data National Institutes of Health (NIH) USA, lebih dari 60% dari semua infeksi mikroba berhubungan dengan biofilm (Lewis, 2001). Biofilm sebagai bagian dari pertahanan mikroba relatif lebih sulit diberantas dengan antibiotik. Dengan demikian mikroba patogen dalam bentuk antibiofilmnya dapat menimbulkan masalah serius bagi Kesehatan manusia (Hamzah dkk., 2019;

Jin-Hyung Lee dkk., 2013)

Biofilm merupakan kumpulan sel-sel mikroba yang melekat secara irreversibel pada suatu permukaan dan terbungkus dalam matriks Extracellular Polymeric Substances (EPS) yang dihasilkannya sendiri serta memperlihatkan adanya perubahan fenotip seperti perubahan tingkat pertumbuhan dan perubahan transkripsi gen dari sel planktonik atau sel bebasnya (Abbas *et al.*, 2013; Donlan

and Costeron, 2002; Hamzah *et al.*, 2018; Hertiani *et al.*, 2011; Nuryastuti *et al.*, 2018; Pratiwi *et al.*, 2015)

C. albicans merupakan salah satu jenis jamur pembentuk biofilm yang sangat patogen. Pada individu immunocompromised, *C. albicans* telah muncul sebagai patogen oportunistik. Jamur ini berkolonisasi pada jaringan epitel dan menyebabkan infeksi superfisial dan mengancam jiwa. *C. albicans* telah menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia pada individu-individu immunocompromised (Almirante *et al.*, 2005; Hamzah *et al.*, 2020).

Di Amerika 75% wanita pada masa reproduksi pernah mengalami vulvovaginitis candidiasis. Antara 40-50% penderita mengalami infeksi berulang dan 5-8% penderita infeksi candida kronis (Wilson, 2004). Dari 345 kasus candidemia yang diteliti di sebuah rumah sakit di Spanyol mortalitas mencapai 44% dengan perincian dari angka tersebut 51% disebabkan oleh infeksi *C. albicans* (Almirante dkk., 2005). Sementara itu, di Jerman angka kematian akibat necrosectomy yang disebabkan oleh infeksi jamur termasuk *Candida* mencapai 62% (Kujath dkk., 2005).

Indonesia memiliki sumber keanekaragaman tanaman yang sangat tinggi, dan menjadi nomor dua terbesar di dunia dalam aspek keanekaragaman hayati. Masyarakat menggunakan pengetahuan mereka untuk memanfaatkan tanaman untuk menggantikan obat-obatan modern dalam menjaga kesehatan dan mengobati penyakit (Nurwijayanto dkk., 2019).

Saponin merupakan salah satu jenis metabolit sekunder dari tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri namun aktivitas antibiofilmnya pada fase pertengahan, pematangan dan degradasi terhadap jenis *C. albicans* ATCC 10231 belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menguji senyawa saponin terhadap *C. albicans* ATCC 10231, yang nantinya dapat menjadi informasi terbaru bagi masyarakat.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow*, inkubator (IF-2B) (Sakura, Japan), *micropipet pipetman* (Gilson, France), *multichannel micropipette* (Socorex, Swiss), *microplate flat-bottom polystyrene 96*

well (Iwaki, Japan), *microtiter plate reader* (Optic Ivymen System 2100-C, Spain), spektrofotometri (Genesys 10 UV Scanning, 335903) (Thermo Scientific Spectronic, USA), *autoclave* (Sakura, Japan), timbangan analitik (AB204 -5, Switzerland).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa Saponin (Sigma-Aldrich, Germany) merupakan koleksi Biologi Farmasi UGM, isolat *C. albicans* standar pembentuk biofilm (*C. albicans* ATCC 10231) yang berasal dari koleksi laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi UGM, Nystatin, DMSO 1%, NaCl, Standar Mc Farland 0,5, akuades steril, media *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB), media RPMI, larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*), kristal violet 1 %, sarung tangan *disposable* dan masker.

Metode

Penyiapan jamur uji

Jamur *Candida albicans* di tumbuhkan selama 72 jam pada suhu 37°C di *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB). Densitas optik ⁶⁰⁰ dari kultur mikroba disesuaikan menjadi 0,1 setara dengan standar McFarland 0,5 ~ 1,5 x 10⁸ CFU/ml

Pengujian antijamur

Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi. Pengujian dilakukan pada *microtiterplate flat-bottom polystyrene 96 wells* dengan seri kadar senyawa saponin yaitu 1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,125 % b/v. Kontrol yang digunakan yaitu kontrol positif menggunakan nystatin 1 % b/v. Kontrol negatif berupa suspensi mikroba serta kontrol pelarut disesuaikan dengan pelarut senyawa uji. Ke dalam masing-masing *wells microplate* dimasukkan media RPMI. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Mikroplate dilakukan proses pembacaan absorbansi dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Pengujian penghambatan pembentukan biofilm Fase pertengahan (24 jam) dan pematangan (48 jam) dengan metode *microbroth dilution*.

Untuk menilai pengaruh isolat uji terhadap pembentukan biofilm mono-spesies *C. albicans*, digunakan *microtiter plate polystyrene flat bottom 96-well* (Pierce dkk., 2010). Sebanyak 100 µL suspensi *C. albicans* (10⁷ CFU/mL) dimasukkan pada tiap *wells microtiter*

plate kemudian diinkubasi pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 90 menit untuk fase perlekatan biofilm. Setelah masa inkubasi, *plate* dicuci menggunakan 150 μL akuadest steril sebanyak tiga kali untuk menghilangkan sel-sel yang tidak melekat. Sebanyak 100 μL media yang mengandung isolat murni saponin dengan seri konsentrasi (1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,125 % b/v), ditambahkan ke setiap sumuran yang telah dicuci. Sebagai kontrol media digunakan media tanpa pertumbuhan mikroba, dan suspensi mikroba digunakan sebagai kontrol negatif. Sebagai kontrol positif digunakan suspensi mikroba yang diberi antijamur nystatin kadar 1 % b/v. *Plate* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk pembentukan biofilm fase pertengahan dan selama 48 jam untuk pembentukan biofilm fase pematangan.

Selanjutnya *plate* dicuci menggunakan air suling sebanyak tiga kali, dan dikeringkan pada suhu kamar selama 5 menit untuk menghilangkan sisa air. Sebanyak 125 μL larutan *kristal violet 1 %* ditambahkan ke dalam tiap *wells* untuk mewarnai biofilm yang telah terbentuk, baik sel mati maupun sel hidup yang juga merupakan komponen penyusun dari biofilm, kemudian diinkubasi pada suhu kamar. Setelah inkubasi pada suhu kamar, *microplate* dicuci dengan air mengalir sebanyak tiga kali untuk membersihkan sisa kristal violet dan ditambahkan 200 μL etanol 96 % ke dalam tiap sumuran untuk melarutkan biofilm yang terbentuk. Pembacaan *Optical Density* (OD) dilakukan dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Nilai OD selanjutnya digunakan untuk menghitung persen penghambatan pada persamaan berikut:

% penghambatan

$$\frac{(OD_{\text{rerata kontrol negatif}} - OD_{\text{rerata sampel uji}})}{OD_{\text{rerata kontrol negatif}}} \times 100$$

Kadar sampel yang dapat menghambat paling sedikit 50 % pembentukan biofilm dianggap sebagai *Minimal Biofilm Inhibition Concentration* MBIC₅₀ (Hamzah *et al.*, 2018; Pierce *et al.*, 2010; Pratiwi *et al.*, 2015; Pratiwi and Hertiani., 2017).

Pengujian penghambatan pembentukan biofilm Fase degradasi

Efek saponin juga diperiksa pada biofilm strain *C. albicans* ATCC 10231 menggunakan

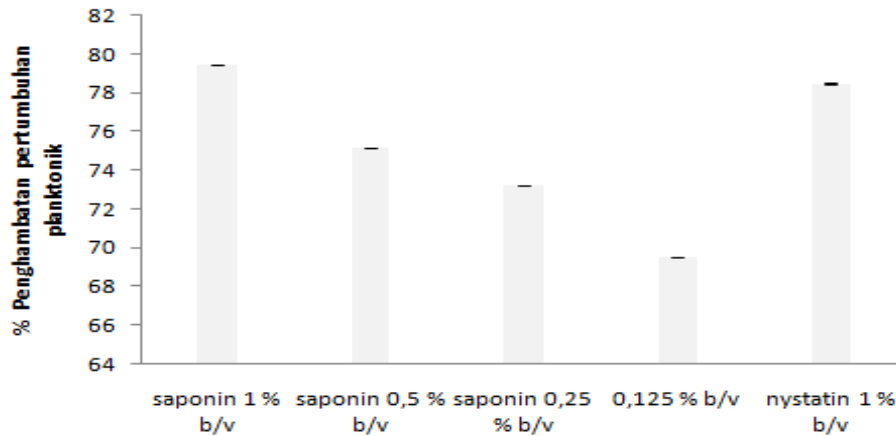
metode yang dijelaskan sebelumnya (Ali *et al.*, 2010; Hamzah *et al.*, 2018). Biofilm diinokulasi dalam *microtiter plate* dengan cara yang mirip dengan yang dijelaskan di atas. Setelah inkubasi pada 37°C selama 48 jam, *plate* dicuci menggunakan 150 μL akuadest steril sebanyak tiga kali untuk menghilangkan sel-sel yang tidak melekat. Sebanyak 100 μL media yang mengandung isolat murni dengan seri konsentrasi (1 % b/v, 0,5 % b/v, 0,25 % b/v, 0,125 % b/v), ditambahkan ke setiap *wells* yang telah dicuci dan kemudian diinkubasi kembali pada 37°C selama 48 jam. Nystatin pada konsentrasi 1 % b/v digunakan sebagai kontrol positif. Setelah inkubasi, plat dicuci tiga kali dengan 200 mL PBS steril untuk menghilangkan sel-sel yang melekat. Degradasi biofilm dikuantifikasi dengan 125 μL larutan *kristal violet 1 %* ke dalam tiap sumuran. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah inkubasi *microplate* dicuci dengan PBS dan ditambahkan 200 μL etanol 96 % ke dalam tiap sumuran untuk melarutkan biofilm yang terbentuk. Pembacaan *Optical Density* (OD) dilakukan dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm (Hamzah *et al.*, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

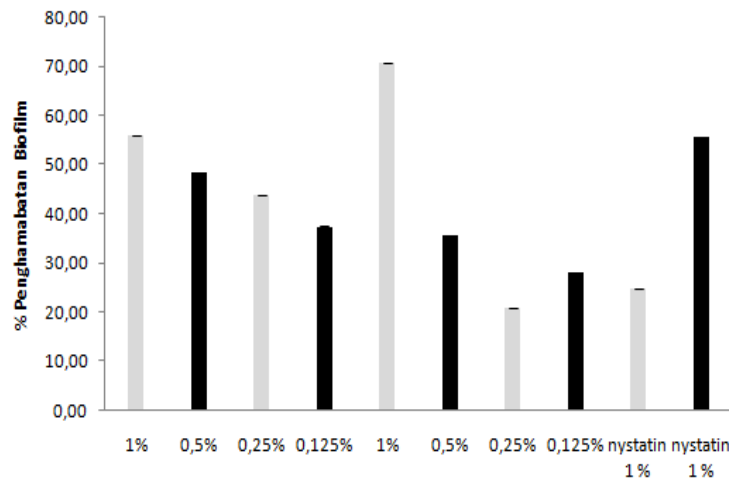
Efek Saponin terhadap Planktonik *C. albicans* dengan menggunakan metode mikrodilusi

Mikrodilusi merupakan suatu metode antibakteri dan antijamur dengan prinsip yang serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan jumlah senyawa, media, bakteri, jamur dalam jumlah yang sedikit dan dengan menggunakan alat *microplate 96 wells*. Metode ini dipilih karena lebih sensitif, efektif dalam pengerjaannya, sampel yang digunakan sedikit dan lebih efisien karena dapat menguji banyak sampel dalam waktu yang singkat.

Hasil yang diperoleh pada pengujian antijamur menggunakan mikrodilusi yaitu senyawa saponin mampu memberikan aktivitas penghambatan terhadap *C. albicans* sebesar 79,48 % \pm 0,01 dan lebih baik dari aktivitas yang diberikan kontrol obat nystatin sebesar 78,49 % \pm 0,01 (Gambar 1). Hasil ini memberikan bukti bahwa senyawa saponin memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antijamur. Hasil ini juga diketahui bahwa terdapat korelasi antara konsentrasi senyawa dengan presentase penghambatan terhadap



Gambar 1. Efek antijamur senyawa saponin terhadap *C. albicans*



Gambar 2. Efek senyawa saponin terhadap mono-spesies *C. albicans*, Abu-Abu: Fase pertengahan (24 Jam), Hitam: Fase pematangan (48 Jam)

C. albicans. Semakin tinggi konsentrasi memberikan aktivitas penghambatan semakin besar. Pernyataan ini sesuai dengan Coleman dkk., (2010) Bahwa saponin memiliki aktivitas sebagai anti jamur yang kedepannya dapat dijadikan sebagai generasi baru senyawa antijamur.

Efek Saponin terhadap mono-spesies biofilm *C. albicans* fase pertengahan (24h).

Biofilm merupakan komunitas heterogen dari mikroorganisme yang menempel pada permukaan abiotik atau biotik.

Beberapa sel akan saling terikat dan melekat pada suatu substrat dan terbungkus dalam matriks extracellularpolymeric substance (EPS) sehingga membentuk struktur

yang kompleks (Anderson dkk., 2003; Cavalheiro dan Teixeira, 2018; Cowan dkk., 2000; Hall-Stoodley dkk., 2004; Harriott dan Noverr, 2010; Hasyrul Hamzah dkk., 2020).

Dalam penelitian ini kami mengevaluasi potensi antibiofilm saponin terhadap penghambatan mono-spesies biofilm *C. albicans*. Hasil ini menunjukkan bahwa saponin mampu menghambat 50 % pembentukan biofilm *C. albicans* (Gambar 2).

Penghambatan saponin terhadap *C. albicans* fase pertengahan sebesar $56,00 \pm 0,02$ lebih rendah dibandingkan dengan kontrol obat nystatin $70,67 \pm 0,01$. Aktivitas MBIC₅₀ senyawa saponin berada pada kadar 1 % b/v hal ini membuktikan bahwa aktivitas senyawa saponin masih dapat memberikan penghambatan pada

mono-spesies biofilm *C. albicans*. Hasil ini juga menunjukkan bahwa senyawa saponin lebih cepat memberikan aktivitasnya dibandingkan pertumbuhan biofilm, sehingga pertumbuhan biofilm tidak dapat membentuk struktur kompleks dan menghasilkan matriks *Extracellular Polimeric Substances* (EPS) lebih banyak yang akan memberikan pertahanan yang kuat pada *C. albicans*, sehingga senyawa obat tidak dapat menembus sel target. Hasil ini diperkuat dengan pernyataan (Coleman dkk., 2010) bahwa senyawa saponin dapat mengganggu Hifa *C. albicans* DAY185 dan pembentukan biofilm.

Hasil ini juga menunjukkan bahwa mikroba yang membentuk biofilm, lebih sukar untuk dihambat dibandingkan mikroba yang membentuk planktonik, hal ini dikarenakan mikroba yang membentuk planktonik hanya berupa sel tunggal sedangkan mikroba dalam biofilm cenderung hidup bersama (banyak koloni) menempel dan tumbuh pada permukaan, dan membentuk struktur berlapis yang dibungkus oleh matriks EPS.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Drake dkk. (2018) yang mengemukakan bahwa mikroba pada biofilm berbeda dengan sel planktonik dari berbagai cara tumbuhnya. Salah satu konsekuensi dari berbagai perbedaan ini adalah bahwa mikroba dalam biofilm telah terbukti lebih resisten terhadap antibiotik dan antimikroba (Drake *et al.*, 2018.).

Proses penghambatan senyawa uji terhadap pertumbuhan biofilm yaitu dengan menghambat pelekatan mikroba ke permukaan sehingga perkembangan biofilm terganggu, ketika perkembangan biofilm terganggu, ini akan mempengaruhi struktur biofilm untuk meningkatkan pertahanan terhadap antimikroba. Selain itu senyawa uji juga merusak matriks EPS biofilm, hal ini akan menyebabkan jalur komunikasi sel dan nutrisi antar mikroba terputus sehingga mikroba yang tadinya ingin membentuk biofilm akan menjadi lisis atau mati, karena hilangnya nutrisi sebagai penyusun pembentukan biofilm.

Efek demetoksi kurkumin terhadap mono-spesies biofilm *C. albicans* fase pematangan (48h).

Pada fase ini senyawa saponin mengalami penurunan aktivitas dibandingkan pada fase penghambatan sel planktonik dan biofilm fase pertengahan. Hal ini dikarenakan

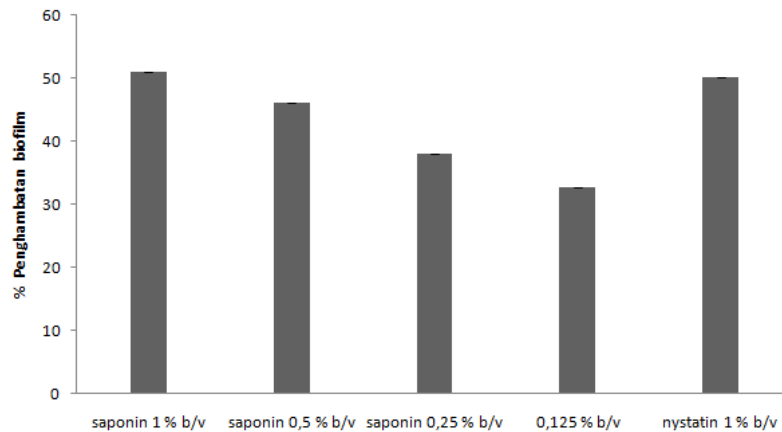
pada fase ini biofilm *C. albicans* telah terbentuk secara sempurna sehingga *C. albicans* mendapatkan perlindungan yang cukup kuat, hal ini terlihat dari lapisan lendir yang dihasilkan biofilm fase pematangan lebih banyak dibandingkan dengan fase pertengahan bukan hanya itu matriks EPS yang dihasilkan pada fase ini jauh lebih banyak dibandingkan pada fase pertengahan, dimana EPS inilah yang menjadi pelindung dan penyedia nutrisi bagi kelangsungan biofilm *C. albicans* sehingga koloni-koloni baru terus terbentuk. Hal ini sesuai dengan penelitian Hamzah *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa pada fase pematangan, agen antimikroba akan memiliki lebih banyak kesulitan untuk menembus pertahanan biofilm. Biofilm dewasa terdiri atas dasar ragi dengan unsur-unsur hifa membentuk jaringan yang kompleks terbungkus dalam EPS dan menjauh dari permukaan (Harriott and Noverr, 2010).

Saponin 1 % memberikan aktivitas penghambatan pada fase pematangan sebesar $35,55 \pm 0,03$, sedangkan aktivitas (nystatin) yang digunakan sebagai kontrol obat menunjukkan aktivitas penghambatan lebih baik dengan aktivitas penghambatan yang diberikan sebesar $55,64 \pm 1,24$ (Gambar 2). Hal ini menunjukkan pada fase pematangan (48 jam) senyawa saponin tidak mampu memberikan aktivitas 50 %.

Hasil ini memberikan bukti bahwa semakin lama waktu pertumbuhan biofilm maka susunan matriks yang dihasilkan semakin banyak juga, dan struktur biofilm yang terbentuk semakin kuat dan kompleks, sehingga senyawa uji atau kontrol obat mengalami penurunan aktivitas dalam menghambat biofilm. Hasil ini diperkuat dengan pernyataan Hamzah (2018) yang menyatakan bahwa pada fase pematangan, agen antimikroba akan memiliki lebih banyak kesulitan untuk menembus pertahanan biofilm. Adanya interaksi antarspesies menyebabkan terjadinya kolonisasi dan dinamika infeksi, serta sejumlah respon lainnya (Donlan, 2002; Harriott dan Noverr, 2011).

Efek saponin terhadap mono- spesies biofilm *Candida albicans* Fase degradasi.

Hasil penelitian pada fase degradasi menunjukkan bahwa saponin dengan konsentrasi 1 % v/v memberikan aktivitas penghambatan biofilm pada fase degradasi



Gambar 3. Efek saponin terhadap penghambatan degradasi biofilm *C. albicans*

sebesar $51,03 \pm 0,01$ dan sedikit lebih baik dari kontrol obat nystatin sebesar $50,21 \pm 0,01$ (Gambar 3). Aktivitas MBEC₅₀ senyawa saponin berada pada kadar 1 % b/v.

Pada fase ini terdapat penurunan aktivitas penghambatan dari fase pertengahan yaitu $56,00 \pm 0,01$ namun pada fase pematangan $35,55 \pm 0,03$, efektivitas senyawa saponin fase degradasi lebih baik dalam memberikan aktivitas penghambatan.

Penurunan aktivitas pada fase degradasi disebabkan karena pertumbuhan pembentukan biofilm pada fase ini lebih panjang dari fase pertengahan, hal ini menyebabkan pembentukan biofilm *C. albicans* lebih kompleks dan terstruktur sehingga matriks EPS yang dihasilkan semakin banyak untuk melindungi *C. albicans*. mikroba pada fase degradasi membentuk suatu komunikasi sel yang sangat terstruktur satu sama lainnya dan saling bersinergi antar mikroba dalam membentuk biofilm sehingga menghasilkan komposisi EPS dan nutrisi yang sangat lengkap dan tebal. Matriks EPS ini dapat terlihat dari lendir mikroba biofilm yang diujikan di *mikroplate 96 wells*, dimana lendir yang dihasilkan pada fase degradasi sangat kental dan padat. Olehnya senyawa antimikroba sangat sulit untuk menghancurkan biofilm pada fase ini dibandingkan dengan fase lainnya.

Hasil ini sesuai dengan pernyataan Pratiwi (2015) bahwa pada fase degradasi biofilm merupakan fase terpanjang dalam pembentukan biofilm. Fase ini berbeda dengan fase pertengahan dan pematangan, dimana pada fase ini struktur EPS biofilm yang terbentuk semakin banyak, tebal dan

sangat kompleks sehingga perlindungan *C. albicans* dari agen antimikroba dan antibiofilm menjadi semakin kuat.

Hal ini diperkuat juga dengan pernyataan Costerton *et al.*, (1995) terapi antibiotik dapat mengeliminasi atau menurunkan planktonik, tetapi mikroba dalam biofilm tetap bertahan ketika diberikan antibiotik. ketika pengobatan dengan antibiotik selesai, maka biofilm akan membentuk sel planktonik lagi yang mengakibatkan terjadinya infeksi akut.

KESIMPULAN

Senyawa saponin memiliki aktivitas antijamur dan antibiofilm mono-spesies *C. albicans* pada fase pertengahan dan degradasi biofilm namun pada fase pematangan senyawa saponin tidak memberikan aktivitas yang lebih baik. Oleh karena itu senyawa saponin potensial untuk dikembangkan sebagai kandidat antijamur dan antibiofilm mono-spesies *C. albicans* pada fase pertengahan dan degradasi biofilm.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih banyak kepada Beasiswa Lembaga Pengelolaan Dana Pendidikan (LPDP) atas bantuan dana dan dukungan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, H.A., Serry, F.M., dan EL-Masry, E.M., 2013. Biofilms: The Microbial Castle of Resistance.
- Ali, I., Khan, F.G., Suri, K.A., Gupta, B.D., Satti, N.K., Dutt, P., dkk., 2010. In vitro antifungal

- activity of hydroxychavicol isolated from Piper betle L. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **9**: 7.
- Almirante, B., Rodriguez, D., Park, B.J., Cuenca-Estrella, M., Planes, A.M., Almela, M., dkk., 2005. Epidemiology and Predictors of Mortality in Cases of Candida Bloodstream Infection: Results from Population-Based Surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *Journal of Clinical Microbiology*, **43**: 1829–1835.
- Anderson, G.G., Palermo, J.J., Schilling, J.D., Roth, R., Heuser, J., dan Hultgren, S.J., 2003. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science (New York, N.Y.)*, **301**: 105–107.
- Cavalheiro, M. dan Teixeira, M.C., 2018. Candida Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Frontiers in Medicine*, **5**.
- Coleman, J.J., Okoli, I., Tegos, G.P., Holson, E.B., Wagner, F.F., Hamblin, M.R., dkk., 2010. Characterization of plant-derived saponin natural products against *Candida albicans*. *ACS chemical biology*, **5**: 321–332.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D.R., dan Lappin-Scott, H.M., 1995. Microbial biofilms. *Annual Review of Microbiology*, **49**: 711–745.
- Cowan, S.E., Gilbert, E., Liepmann, D., dan Keasling, J.D., 2000. Commensal Interactions in a Dual-Species Biofilm Exposed to Mixed Organic Compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**: 4481–4485.
- Donlan, R. dan Costerton, J., 2002. *Biofilm: Survival Mechanism of Clinically Relevant Microorganism*. *Clin Microbial Rev.*
- Donlan, R.M., 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, **8**: 881–890.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J.W., dan Stoodley, P., 2004. Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, **2**: 95–108.
- Hamzah, H., Hertiani, T., Pratiwi, S.U.T., Murti, Y.B., dan Nuryastuti, T., 2020. The Inhibition and Degradation Activity of Demethoxycurcumin as Antibiofilm on *C. albicans* ATCC 10231. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, **13**: 377–382.
- Hamzah, H., Hertiani, T., Pratiwi, S.U.T., dan Nuryastuti, T., 2019. The Inhibition Activity of Tannin on the Formation of Mono-Species and Polymicrobial Biofilm *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. *Majalah Obat Tradisional*, **24**: 110–118.
- Hamzah, H., Hertiani, T., Pratiwi, S.U.T., dan Nuryastuti, T., 2020. Inhibitory activity and degradation of curcumin as Anti-Biofilm Polymicrobial on Catheters. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, **11**: 830–835.
- Hamzah, H., Pratiwi, S.U.T., dan Hertiani, T., 2018. Efficacy of Thymol and Eugenol Against Polymicrobial Biofilm. *Indonesian Journal of Pharmacy*, **29**: 214.
- Harriott, M.M. dan Noverr, M.C., 2010. Ability of *Candida albicans* Mutants to Induce *Staphylococcus aureus* Vancomycin Resistance during Polymicrobial Biofilm Formation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **54**: 3746–3755.
- Harriott, M.M. dan Noverr, M.C., 2011. Importance of *Candida*-bacterial polymicrobial biofilms in disease. *Trends in Microbiology*, **19**: 557–563.
- Hertiani, T., Pratiwi, S.U.T., Irianto, I.D.K., dan Pranoto, B., 2011. Effect of Indonesian medicinal plants essential oils on *Streptococcus mutans* biofilm.
- Jin-Hyung Lee, Joo-Hyoon Park, Hyun Seob Cho, Sang Woo Joo, Moo Hwan Choo, dan Jintae Lee, 2013. Anti-Biofilm activities of Quercetin and Tannic acid against *Staphylococcus aureus*, Biofiling. *The Journal of Bioadhesion and Biofilm Researc*, **29**: 5: 491–499.
- Nurwijayanto, A., Na'iem, M., Wahyuono, S., dan Syahbudin, A., 2019. Screening of antioxidants properties from Understory plants of Gunung Merapi National Park (Yogyakarta, Indonesia): potential use for alternative medicine.
- Nuryastuti, T., Setiawati, S., Ngatidjan, N., Mustofa, M., Jumina, J., Fitriastuti, D., dkk., 2018. Antibiofilm activity of (1)-N-2-methoxybenzyl-1,10-phenanthroline bromide against *Candida albicans*. *Journal de Mycologie Médicale*, **28**: 367–373.
- Pierce, C.G., Uppuluri, P., Tummala, S., dan Lopez-Ribot, J.L., 2010. A 96 well

- microtiter plate-based method for monitoring formation and antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*.
- Pratiwi, S.U.T. dan Hertiani, T., 2017. Efficacy of Massoia Oil in Combination with Some Indonesian Medicinal Plants Oils as Anti-Biofilm Agent Towards *Candida Albicans*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **8**: 13.
- Pratiwi, S.U.T., Legendijk, E.L., Hertiani, T., Weert, S.D., M, C.A., dan Hondel, J.J.V.D., 2015. Antimicrobial Effects of Indonesian Medicinal Plants Extracts on Planktonic and Biofilm Growth of *Pseudomonas Aeruginosa* and *Staphylococcus Aureus*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 183–191.
- Wilson, C.S., 2004. 'Treatment for Recurrent Vulvovaginitis Candidiasis: An Overview of Traditional and Alternative Therapies'. DTIC Document.