

Aktivitas Antijamur Ekstrak Etil Asetat Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Candida albicans* secara In Vitro

Zainul Arifin¹, Siti Khotimah², Sari Rahmayanti³

¹ Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

² Program Studi Biologi, FMIPA UNTAN

³ Departemen Mikrobiologi, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. Salah satu jenis jamur sebagai flora normal yang terdapat di tubuh manusia adalah *Candida albicans*. Jamur ini dapat menyebabkan penyakit yang disebut kandidiasis. Pengobatan kandidiasis menggunakan obat seperti golongan azol memiliki efek merugikan seperti gatal, eritema dan rasa panas. Menurut penelitian sebelumnya mangga bacang memiliki kandungan senyawa tanin, alkaloid, fenol, steroid, terpenoid dan flavonoid yang memiliki efek menghambat pertumbuhan jamur. **Metode.** Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode uji kualitatif. Penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% dengan kontrol positif berupa ketokonazol 15 µg/disk dan kontrol negatif berupa Tween 80 10%. Uji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer. **Hasil.** Skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun mangga bacang positif mengandung fenol, flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Ekstrak etil asetat daun mangga bacang menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan zona hambat maksimum pada konsentrasi 100% sebesar 10,58 mm dan minimum pada konsentrasi 50% sebesar 7,35 mm. **Kesimpulan.** Ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*.

Kata Kunci: Antijamur, Ekstrak etil asetat daun mangga bacang, *Candida albicans*

Background. *Candida albicans* is a type of fungus contained in human body that acts as flora normal. This fungus can cause a disease called candidiasis. Candidiasis treatment using drugs like azoles have adverse effects such as itching, erythema and burning feeling. Leaves of *Mangifera foetida* L. contains tannin, alkaloid, phenol, steroid, terpenoid and flavonoid which have the effect of inhibiting the growth of fungi. **Method.** Phytochemical screening conducted using qualitative test. This study used 6 concentrations: 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, with ketoconazole 15 µg/disk as positive control and 10% Tween 80 as negative control. Antifungus activity test is done with using Kirby-Bauer diffusion method. **Result.** Phytochemical screening of ethyl acetate extract of *Mangifera foetida* L. leaves is positive in containing phenol, flavonoid, saponin, tannin and alkaloid. Ethyl acetate extracts of *Mangifera foetida* L. leaves inhibits the growth of *Candida albicans* with maximum inhibition zone at 100% concentration by 10.58 mm and the minimum concentration of 50% by 7.35 mm. **Conclusion.** Ethyl acetate extract of *Mangifera foetida* L. leaves had antifungus activity against *Candida albicans*.

Key word: Antifungal, Ethyl acetate extract of mangga bacang leaves, *Candida albicans*.

LATAR BELAKANG

Jamur adalah organisme eukariotik yang tidak berfotosintesis dan tumbuh sebagai massa filamen yang bercabang dan tersusun oleh hifa. Jamur dapat hidup di air, tanah dan debris organik. Dalam dunia kedokteran jamur dapat digunakan sebagai penyedia metabolit sekunder yang bermanfaat untuk pembuatan antibiotik (penisilin) dan obat immunosupresif seperti siklosporin.¹

Jamur dapat hidup di alam dan juga dapat tumbuh sebagai flora normal pada manusia. Sebagai flora normal, jamur memiliki manfaat untuk mencegah kolonisasi dari mikroorganisme patogen yang berasal dari luar maupun dari dalam tubuh. Jamur yang ada pada permukaan kulit manusia juga dapat bersifat patogen yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti lingkungan lembap dan faktor imunitas yang dapat menyebabkan jamur berkembang lebih banyak daripada jumlah normalnya pada kulit. Faktor lingkungan berkaitan dengan iklim, misalnya beriklim

tropis seperti Indonesia menyebabkan jamur lebih mudah untuk berkembang. Indonesia juga memiliki kelembaban yang tinggi dan apabila hal ini didukung oleh perilaku yang tidak sehat dari masyarakat, maka angka infeksi dari jamur akan semakin tinggi.¹

Salah satu jenis jamur sebagai flora normal yang terdapat di tubuh manusia adalah *Candida albicans*. Jamur ini ditemukan lebih banyak di rongga mulut, vagina dan usus besar.^{1,2} Penyakit yang disebabkan oleh *Candida albicans* adalah kandidiasis. Penelitian yang dilakukan oleh Nylon Health District Hospital in Duoala, menunjukkan bahwa 67,1% penderita HIV mengalami kandidiasis dan 63,7% pada pasien dengan terapi antibiotik.³ Kandidiasis dapat menyebar melalui aliran darah yang disebut dengan kandidiasis invasif. Menurut penelitian yang dilakukan di Iran, 45% pasien dengan gangguan ginjal dan 84% pasien dengan gangguan hati memiliki koloni *Candida* di tubuhnya. Infeksi *Candidia albicans* ini

dapat mengakibatkan kematian hingga 40%.⁴

Terapi yang sering digunakan pada kandidiasis adalah obat golongan azol yang lebih mudah digunakan secara topikal. Cara kerja dari obat ini adalah dengan menghambat sintesis ergosterol yang membuat membran sel jamur menjadi rusak. Akan tetapi golongan obat ini seringkali menimbulkan efek yang merugikan sebagai antijamur. Efek merugikan dari golongan azol ini adalah rasa gatal, eritema dan rasa panas pada daerah yang terinfeksi.⁵ Selain itu nistatin sebagai salah satu golongan obat azol memiliki efek teratogenik apabila diberikan pada wanita hamil.⁶ Itrakonazol sebagai antijamur dilaporkan berhubungan dengan kegagalan jantung dan amfoterisin B sering dikaitkan dengan aritmia.

Clotrimazol dapat menyebabkan vasodilatasi dengan mekanisme menghambat channel kalsium. Pada konsentrasi yang rendah daripada obat golongan azol lainnya, ketokonazol dapat

menghambat kerja glutamat sehingga menyebabkan terganggunya fungsi pernapasan.⁷ Efek merugikan inilah yang menyebabkan perlunya alternatif pengobatan lain yaitu dengan obat-obatan tradisional.

Salah satu tanaman obat yang bisa dipakai adalah mangga bacang (*Mangifera foetida* L.). Mangga bacang mengandung metabolit sekunder berupa tanin, alkaloid, fenol, steroid, terpenoid dan flavonoid yang memiliki efek untuk menghambat pertumbuhan sel jamur. Menurut penelitian yang dilakukan Purwaningsih, mangga bacang memiliki kandungan mangiferin lebih tinggi 2,56% daripada jenis mangga yang lain. Mangiferin merupakan turunan flavonoid memiliki efek sebagai antioksidan, antitumor, antiinflamasi, imunomodulator, antialergi, antibakteri dan antijamur.^{8,9}

Penelitian mangga bacang terhadap *Candida albicans* sebelumnya pernah dilakukan oleh Ariza,¹⁰ dengan hasil zona hambat terbesar pada konsentrasi 100%

dengan rata-rata zona hambat sebesar 22,80 mm. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah pelarut yang digunakan yaitu etil asetat. Pelarut etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa flavonoid seperti mangiferin. Penggunaan pelarut yang bersifat semipolar ini diharapkan dapat menarik lebih banyak metabolit sekunder sehingga dapat menghasilkan zona hambat yang lebih besar daripada penelitian sebelumnya.¹¹⁻¹³

METODE

Bahan

Bahan Uji

Bahan yang akan diujikan pada penelitian ini daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) yang diambil dari desa Desa Wajok, Kecamatan Jungkat, Kabupaten Pontianak.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang akan digunakan pada penelitian ini adalah flukonazol 15 µg/disk sebagai kontrol positif, etil asetat,

Tween 80 10% 10%, spiritus, asam asetat (CH_3COOH) glasial, H_2SO_4 pekat, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, magnesium (Mg), asam klorida (HCL) pekat, besi (III) klorida (FeCl_3) 5%, besi (III) klorida (FeCl_3) 1%, pereaksi Molisch, H_2O_2 3%, kloroform (CH_3Cl), Standar McFarland 0,5, larutan Lactophenol Cotton Blue (LPCB), larutan karbol gentian violet, larutan lugol, larutan alkohol 96%, larutan safranin, imersi, larutan karbol fuchsin, larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%, *dextrose*, agar, *peptone*, akuades.

Jamur Uji

Jamur yang akan diujikan pada penelitian ini adalah *Candida albicans* yang merupakan koleksi dari Unit Laboratorium Kesehatan Pontianak.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pisau, gunting, blender, toples, *vacuum rotary evaporator* (Rotavator II BUCHI), wadah plastik, timbangan analitik (Precisa®), sendok

stainless, oven, inkubator (Memmert[®]), cawan porselen, desikator, batang pengaduk (Iwaki Pyrex[®]), tabung reaksi (Iwaki Pyrex[®]) 15 mL, *beaker glass* 600 mL dan 1000 mL, tabung erlenmeyer (Iwaki Pyrex[®]) 250 mL, corong kaca (Iwaki Pyrex[®]), autoklaf (HL36Ac[®]), labu ukur (Iwaki Pyrex[®]) 25 mL dan 100 mL, gelas ukur (Iwaki Pyrex[®]) 50 mL, alumunium foil, kertas saring Whatman, cawan petri (Iwaki Pyrex[®]), *object glass* (Iwaki Pyrex[®]), pipet tetes (Iwaki Pyrex[®]), jangka sorong, tip dan mikropipet (Acura[®]), jarum ose, mikroskop (Olympus[®] CX 21), pembakar bunsen, rak tabung reaksi, baskom.

Pengambilan tanaman

Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah mangga bacang dengan bagian yang diambil adalah daunnya. Tanaman ini diambil dari Desa Wajok, Kecamatan Jungkat, Kabupaten Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap metabolit sekunder flavonoid, fenol, alkaloid, tanin dan saponin.

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak

Pembuatan sampel ekstrak etil asetat terdiri dari pembuatan larutan stok dan pembuatan variasi konsentrasi. Larutan stok dibuat dengan cara melarutkan 10 g ekstrak dalam 10 mL *Tween* 80 10% yang diencerkan dalam 100 mL akuades. Konsentrasi yang dibuat yaitu 100%, 90%, 80%, 70% dan 60% dengan menggunakan rumus $M_1.V_1 = M_2.V_2$.

Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Pembuatan media dilakukan dengan menimbang media SDA sebanyak 65 gram untuk setiap 1 liter air kemudian masukkan ke dalam labu erlenmeyer dan ditambahkan 1 liter air. Tutup labu erlenmeyer dengan *alumunium foil*. Panaskan dan aduk hingga merata.

Identifikasi Jamur Uji

Jamur uji diidentifikasi menggunakan metode pewarnaan gram

dan pertumbuhan pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA).

Kontrol

Kontrol positif menggunakan ketokonazol 15 µg/mL dan kontrol negatif menggunakan *Tween*80 10%.

Uji Aktivitas Antijamur

Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan menuangkan media *Sabouraud Dextrose Agar* ke dalam cawan petri sebanyak 20 mL. Kemudian usapkan jamur menggunakan *swab* kapas steril ke permukaan media dengan cara *streaking*. Letakkan cakram yang telah direndam ke dalam variasi konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif.

HASIL

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan teknik yang digunakan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari ekstraksi suatu tanaman. Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera*

foetida L.) memiliki kandungan metabolit sekunder berupa flavonoid, fenol, tanin, alkaloid dan saponin. Skrining fitokimia pada penelitian ini hanya bersifat kualitatif sehingga kadar metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tersebut tidak bisa diukur.

Flavonoid dalam sampel penelitian ini dapat diketahui dengan mencampurkan ekstrak dengan serbuk Mg dan HCl pekat. Penambahan HCl akan menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi dan reduksi antara Mg yang berperan sebagai pereduksi dan flavonoid sebagai reaksi oksidasi. Adanya flavonoid ditandai dengan adanya perubahan warna larutan menjadi merah tua atau kuning.⁵⁰

Adanya fenol dalam ekstrak sampel penelitian ini diketahui dengan menambahkan ekstrak dengan beberapa tetes air panas dan larutan FeCl₃. Penambahan FeCl₃ akan menyebabkan fenol bereaksi dengan ion Fe³⁺ sehingga terbentuk senyawa kompleks yang ditandai

dengan perubahan warna larutan menjadi hijau, biru atau ungu.^{40,51}

Tanin terbagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok tanin yang terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang akan terhidrolisis apabila dididihkan dalam asam klorida encer. Tanin terkondensasi merupakan senyawa tidak berwarna yang banyak terdapat pada tumbuhan paku-pakuan. Pada hasil pemeriksaan tanin terhadap ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) didapatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna coklat kehitaman.⁵²

Pada uji alkaloid menggunakan pereaksi Meyer, ion K^+ dari kalium tetra iodomerkurat (II) akan beraksi dengan alkaloid yang terdapat pada sampel sehingga terbentuk endapan kompleks kalium-alkaloid. Pada uji tanin menggunakan pereaksi Wagner, ion K^+ yang didapatkan dari kalium iodida akan bereaksi dengan alkaloid dengan membentuk ikatan kovalen sehingga

terbentuk endapan kalium-alkaloid yang berwarna coklat. Pengujian tanin menggunakan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan berwarna jingga yang diduga berasal dari reaksi antara nitrogen dan K^+ .^{53,54}

Saponin merupakan senyawa glikosida steroida atau triterpenoida yang ditemukan pada lebih dari 90 genus tumbuhan. Saponin dapat menghasilkan busa jika dikocok bersama dengan campuran air yang berasal dari reaksi antara gugus hidrofil yang berikatan dengan air dan gugus hidrofob yang berikatan dengan udara.^{40,55}

Triterpenoid merupakan senyawa yang tidak memiliki warna, jernih, terasa pahit, memiliki titik lebur yang tinggi serta memiliki struktur yang sebagian besar terdiri dari asam karboksilat, alkohol dan aldehid. Steroid merupakan senyawa turunan dari triterpenoid yang tidak larut air.^{40,56}

PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Antijamur

Penelitian ini menggunakan enam variasi konsentrasi yaitu 100%, 90%, 80%, 70%, 60% dan 50% serta kontrol positif berupa ketokonazol 15 µg/fisk dan kontrol negatif berupa Tween80 10%. Penentuan variasi konsentrasi berdasarkan uji pendahuluan ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *C. albicans* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 90%. Pada uji pendahuluan didapatkan hasil zona hambat yang paling baik yaitu pada konsentrasi 75% dengan diameter 8,96 mm sehingga pada penelitian ini penentuan variasi konsentrasi berada pada di sekitar konsentrasi 75%. Penentuan kontrol positif pada penelitian ini berdasarkan uji sensitivitas terhadap empat obat antijamur yaitu flukonazol, ketokonazol, itrakonazol dan nistatin.

Pada uji sensitivitas antijamur didapatkan hasil dengan zona hambat terbesar yaitu ketokonazol dengan nilai

zona hambat yaitu 29,3 mm dimana menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) tahun 2014 ketokonazol dikatakan sensitif apabila zona hambat sebesar ≥ 28 mm.

Aktivitas antijamur ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) diduga berasal dari senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, fenol dan saponin. Menurut Zearah,⁵⁸ flavonoid sebagai senyawa aktivitas antijamur memiliki gugus hidroksil bekerja dengan cara membentuk kombinasi dengan fosfolipid dari membran sel jamur sehingga menyebabkan rusaknya sel jamur yang dapat menghambat pertumbuhan sel dan meningkatkan permeabilitas membran yang menyebabkan sel jamur terdenaturasi.

Alkaloid memiliki ikatan atom hidrogen meskipun kebanyakan hanya memiliki satu atom nitrogen. Pada tumbuhan alkaloid berfungsi sebagai senyawa yang melindungi tumbuhan dari

infeksi dan sebagai perlindungan terhadap efek toksin dari reaksi fotosintesis.⁵⁹

Mekanisme kerja tanin sebagai antijamur adalah dengan cara menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama penyusun membran sel jamur. Sterol merupakan struktur sekaligus komponen regulator yang terdapat pada membran sel eukariotik. Sterol merupakan produk terakhir dari biosintesis sterol pada sel jamur. Seperti kolesterol pada sel mamalia, sterol diduga berperan dalam permeabilitas membran sel jamur.⁶⁰

Fenol sebagai antijamur bekerja dengan cara meningkatkan jumlah *reactive oxygen species* (ROS) sehingga memicu terjadinya apoptosis sel jamur pada *C. albicans*. Mekanisme kerja fenol menurut Keebara *et al* adalah dengan cara meningkatkan jumlah ROS dan menghambat pembentukan hifa dengan menargetkan gen TUP1 yang berperan dalam pembentukan hifa pada *C. albicans*.⁶¹

Saponin sebagai antijamur dapat bekerja dengan cara membentuk kompleks dengan sterol yang merupakan enzim penyusun dinding sel jamur sehingga menyebabkan hilangnya permeabilitas dinding sel. Saponin merupakan senyawa glikosida yang banyak terdapat pada tanaman. Saponin dibagi menjadi dua kelompok yaitu steroid saponin yang terdapat pada tanaman rumput dan triterpenoid saponin yang dapat ditemukan pada kedelai. Saponin memiliki aktivitas farmakologi sebagai antijamur, antibiotik, antivirus, antiinflamasi dan hepatoprotektif.⁶²

Analisis data dilakukan setelah data hasil penelitian didapatkan. Uji yang digunakan adalah *One-Way ANOVA* dengan syarat dilakukan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene* terlebih dahulu serta hasil data keduanya harus normal.

Menurut Santoso,⁶³ apabila pada uji *Levene* didapatkan hasil signifikansi $p < 0,05$ maka dapat dikatakan bahwa

sebaran data tidak homogen dan pada uji *Saphiro-Wilk* apabila signifikansi $p > 0,05$ maka dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Pada penelitian ini didapatkan signifikansi $p = 0,000$ pada uji *Levene* sehingga dikatakan bahwa data tidak terdistribusi normal dan pada uji *Saphiro-Wilk* didapatkan nilai $p = 0,049$ pada konsentrasi 80% yang berarti sebaran data tidak normal sehingga syarat uji ANOVA tidak terpenuhi dan dilakukan uji alternatif *Kuskall-Wallis*.

Pada *Kuskal-Wallis* didapatkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga dapat dikatakan bahwa setidaknya terdapat perbedaan bermakna pada setiap kelompok perlakuan. Analisis data *Post Hoc* untuk *Kuskal-Wallis* adalah *Mann-Whitney*. Menurut Dahlan,⁶⁴ apabila pada uji *Mann-Whitney* didapatkan nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Pada penelitian ini kelompok yang terdapat perbedaan bermakna adalah konsentrasi 100% terhadap konsentrasi

90%, 80%, 70%, 60% dan 50%. Kelompok selanjutnya yang memiliki perbedaan bermakna adalah konsentrasi 90% terhadap konsentrasi 80%, 70%, 60% dan 50%. Perbedaan bermakna juga dapat ditemukan pada kelompok konsentrasi 80% terhadap konsentrasi 70% dan 60%.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Imani,¹⁰ dengan menggunakan pelarut etanol dibandingkan dengan penelitian ini didapatkan hasil yang lebih baik yaitu dengan zona hambat minimum sebesar 9,15 mm pada konsentrasi 12,5% dan zona hambat maksimum sebesar 22,80 mm pada konsentrasi 100% dimana pada penelitian ini zona hambat minimum sebesar 7,35 mm pada konsentrasi 50% dan zona hambat maksimum sebesar 10,58 mm pada konsentrasi 100%.

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antijamur yaitu faktor teknis dan faktor virulensi. Faktor teknis merupakan faktor yang dapat dikontrol oleh peneliti seperti prosedur

penelitian serta variabel terkontrol berupa lama inkubasi, media, pH dan suhu lingkungan.⁶⁵

Faktor virulensi juga merupakan faktor yang berperan dalam pengujian aktivitas antijamur. Faktor virulensi merupakan faktor yang berperan dalam patogenesis *C. albicans* yang meliputi perubahan morfologi, ekspresi adhesin dan invasin pada permukaan sel jamur, pembentukan biofilm, perubahan fenotip dan sekresi enzim hidrolisis. Faktor virulensi ini tidak dapat dikendalikan oleh peneliti.⁶⁶

Berdasarkan penjelasan yang telah dipaparkan dapat diketahui bahwa ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) memiliki aktivitas antijamur terhadap pertumbuhan *C. albicans* meskipun zona hambat yang dihasilkan masih tergolong lemah. Hasil dari penelitian ini diduga dipengaruhi oleh faktor yang mempengaruhi hasil dari penelitian ini yaitu faktor teknis dan biologi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brooks GF, Morse SA, Mietzner T, Butel JS, Carroll KC. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz Melnick & Adelberg. 25th ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014.
2. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiology: An Introduction. Twelfth edition. Boston: Pearson; 2016. 1 p.
3. Toua V, Djaouda M, Gake B, Menye DE, Christie EA, Tambe E, et al. Prevalence of Vulvovaginal Candidiasis Amongst Pregnant Women in Maroua (Cameroon) and the Sensitivity of *Candida albicans* to Extracts of Six Locally Used Antifungal Plants. *Int Res J Microbiol*. 2013;4(3):89–97.
4. Zarrin M, Mahmoudabadi AZ. Invasive Candidiasis; A Review Article. *Jundishapur J Microbiol*. 2009;2(1):1–6.
5. Dressen G, Neumeister C, Kursche W, Schwantes U. Diagnosis of Vulvovaginal Candidiasis and Effectiveness of Combined Topical Treatment With Nistatin. *Open Womens Health J*. 2012;2:19–23.
6. TH T, Rahardja K. Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya. Jakarta: Gramedia; 2007.
7. Cleary JD, Stover KR, Farley J, Daley W, Kyle PB, Hosler J. Cardiac Toxicity of Azole Antifungals. *Pharmacol Amp Pharm*. 2013;4(3):362–8.
8. Somkuwar DO, Kamble VA. Phytochemical Screening Of Ethanolic Extracts Of Stem, Leaves, Flower And Seed Kernel Of *Mangifera Indica* L. *Int J Pharma Bio Sci*. 2013;4(2):383–9.
9. Wauthoz N, Balde A, Balde ES, Damme MV, Duez P. Ethnopharmacology of *Mangifera Indica* L. Bark and Pharmacological Studies Of Its Main C-Glucosylxanthone, Mangiferin. *Int J Pharma Bio Sci*. 2007;1(2):112–9.
10. Imani AZ. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Candida albicans* Secara

- In Vitro. J Pendidik Dr Kalimantan Barat. 2015;3.
11. Shinde S, Thorat L, Mulay A. Comparative Study of Mangiferin from *Mangifera Indica* (Rajapuri) From Its Leaves and Bark. *Int J Innov Emerg Res Eng*. 2015;2(6):22–5.
 12. Tanaya V, Ruriri R, Suratmo. Fraksi Semi Polar Dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera Kasturi* Kosterm). *Univ Brawijaya Malang Kim Stud Malang*. 2015;1(1):778–84.
 13. Harwood L,M, Moody C,J. *Experimental Organic Chemistry, Principles and Practice*. Oxford: Blackwel Scientific Publications; 1989.
 14. Nuryanto A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *J Pendidik Dr Kalimantan Barat*. 2014;1.
 15. Wijayanti RP. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *J Pendidik Dr Kalimantan Barat*. 2014;1.
 16. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In Vitro Evaluation Of Antibacterial Activity Of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens Of Human. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2013;5(4):679–84.
 17. Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S. *Agroforestry Database: a Tree Reference and Selection Guide Version 4.0* [Internet]. 2009. Available from: <http://www.worldagroforestry.org/>
 18. Morais TC, Lopes SC, Carvalho KM M,B, Arruda BR, Souza FT C, Trevisan MT S, et al. Mangiferin, a Natural Xanthone, Accelerates Gastrointestinal Transit in Mice Involving Cholinergic Mechanism. *World J Gastroenterol*. 2012;18(25):3207–14.
 19. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Indonesia. IV*. Jakarta: Depkes RI; 1995.
 20. Ansel HC. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. 4th ed. Jakarta: UI Press; 2005.
 21. Mayanti T, Tjokronegoro R, Supratman U, Mukhtar MR, Awang K, Hadi AHA. Antifeedant Triterpenoids from the Seeds and Bark of *Lansium domesticum* cv *Kokossan* (Meliaceae). *Molecules*. 2011 Mar 29;16(12):2785–95.
 22. Godstime C O, Felix O E, Augustina O J, Christopher O E. Mechanisms of Antimicrobial Actions of Phytochemicals Against Enteric Pathogens – A Review. *J Pharm Chem Biol Sci*. 2014;2(2):77–85.
 23. Heinrich M, Barnes J, Gibbson S, Williamson S,E. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2010.
 24. Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A. Phytochemistry of Medicinal Plants. *J Pharmacogn Phytochem*. 2013;1(6):168–82.
 25. Aniszewski T. *Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology and Applications* [Internet]. 2015 [cited 2016 May 6]. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=985599>
 26. *Candida albicans* [Internet]. Integrated Taxonomic Information System (ITIS). [cited 2017 Jan 9]. Available from: http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=194598.
 27. Kayser FH, editor. *Medical Microbiology*. Stuttgart; New York, NY: Georg Thieme Verlag; 2005. 698 p.
 28. Deorukhkar SC, Saini S. Laboratory Approach for Diagnosis of Candidiasis Through Ages. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 2014;3(1):206–18.
 29. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata K M, Setiati S. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II*. 6th ed. Jakarta: FKUI; 2014.
 30. Williams D, Lewis M. Pathogenesis and Treatment of Oral Candidosis. *J Oral Microbiol* [Internet]. 2011 Jan 28 [cited 2016 May 6];3(0). Available from: <http://journals.sfu.ca/coaction/index.php/jom/article/view/5771>
 31. Rochani N. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimianya. *Univ Muhammadiyah Surak Fak Farm Surak*. 2009;
 32. Kanafani ZA, Perfect JR. Resistance to Antifungal Agents: Mechanisms and Clinical Impact. *Clin Infect Dis*. 2008 Jan 1;46(1):120–8.
 33. Charlier C, Hart E, Lefort A, Ribaud P, Dromer F, Denning D,W, et al. Fluconazole for the Management of Invasive Candidiasis: Where do We Stand After 15 Years. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57(3):384–410.
 34. Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. *Farmakologi dan Terapi*. 5th ed. Jakarta: Badan Penerbit FKUI; 2012.
 35. Federer WT. *Statistic and Society: Data Collection and Interpretation*. 2nd ed. New York: CRC Press; 1991.
 36. Voigt, R. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. 5th ed. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 1994.
 37. Lailatul K L, Kadarohman A, Eko R. Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanioides*) Terhadap Larva. *J Sains Dan Teknol Kim*. 2010;1:59–65.

38. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Depkes RI; 1989. 333-7, 549-53 p.
39. Sangi MS, Momuat LI, Kumaunang M. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). *J Ilm Sains*. 2012;12:128–34.
40. Harborne J.B. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
41. Waluyo, L. *Mikrobiologi Umum*. Revisi. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang; 2007.
42. Cappucino, J.G., Sherman N. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. 8th ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014. 73-6, 447-8 p.
43. Janelle H. Sabouraud Agar for Fungal Growth Protocols [Internet]. 2008 [cited 2016 Feb 2]. Available from: <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3156-sabouraud-agar-for-fungal-growth-protocols>
44. Gandasoebrata, R. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat; 2009.
45. ICMR. Detection of Antimicrobial Resistance in Common Gram Negative and Gram Positive Bacteria Encountered in Infectious Disease-An update. *Indian Counc Med Res*. 2009;39:1–20.
46. Lee JA, Chee HY. In Vitro Antifungal Activity of Equol Against *Candida albicans*. *Mycobiology*. 2010;38(4):328.
47. Cockerill F. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard*. Wayne, Pa.: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
48. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 24th Informational Supplement M100-S24*. Clin Lab Stand Inst Wayne PA. 2014;
49. Marozynska M, Kunicka-Styczynska A, Rajkowska K, Maroszyńska I. Antibiotics Sensitivity of *Candida* Clinical and Food-borne Isolates. *Acta Biochim Pol*. 2013;60:719–24.
50. Paudel B, Bhattarai HD, Kim IC, Lee H, Sofronov R, Ivanova L, et al. Estimation of Antioxidant, Antimicrobial Activity and Brine Shrimp Toxicity of Plants Collected From Oymyakon Region of the Republic of Sakha (Yakutia), Russia. *Biol Res*. 2014;47(10):1–6.
51. Adifa M. Isolasi Senyawa Flavonoid Aktif Berkhasiat Sitotoksik Dari Daun Kemuning (*Murraya paniculata* L. Jack). Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Bengkulu. *J Gradien*. 2007;3(2).
52. Ahluwalia VK, Dhingra, S. *Comprehensive Practical Organic Chemistry*. Univ Press India. 2004;
53. Robinson, T. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. IV. Bandung: ITB Press; 1995.
54. Darwis, S.A., Achmad, B. *Kimia Organik Bahan Alam Laut*. Jakarta: Universitas Indonesia; 2001.
55. Marlina, S.D., Suryanti, V., Suyono. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. *J Biofarmasi*. 2005;4:26–31.
56. Kumalasari, E., Nanik, S. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Aredera cordifolia* Tenore. Steen.) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimia. *J Ilm Kefarmasian*. 2011;1(2):51–62.
57. Wilson, Gisvold. *Kimia Farmasi dan Medisinal Organik*, Edisi ketujuh (diterjemahkan Fatah, A.M). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 1982.
58. Zearah SA. Antifungal and Antibacterial Activity of Flavonoid Extract From *Terminalia chebula* Retz. *Fruits*. *J Basrah Res*. 2014;40(1):122–31.
59. Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: An Overview of Their Antibacterial, Antibiotic-Enhancing and Antivirulence Activities. *Int J Antimicrob Agents*. 2014 Nov;44(5):377–86.
60. Hong LS, Ibrahim D, Kassim J, Sulaiman S. Gallic Acid: An Anticandidal Compound in Hydrolysable Tannin Extracted From the Barks of *Rhizophora apiculata* Blume. *J Appl Pharm Sci*. 2011;1(6):75–9.
61. Kebaara BW, Langford ML, Navarathna DHMLP, Dumitru R, Nickerson KW, Atkin AL. *Candida albicans* Tup1 Is Involved in Farnesol-Mediated Inhibition of Filamentous-Growth Induction. *Eukaryot Cell*. 2008 Jun 1;7(6):980–7.
62. Soetan, K.O., Oyekunle, M.A., Aiyelaagbe, O.O., Fafunso, M.A. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Saponins Extract of *Sorghum Bicolor* L. Moench. *Afr J Biotechnol*. 2006;5(23):2405–7.
63. Santoso, S. *Menggunakan SPSS Untuk Statistik Non-parametrik*. Jakarta: PT Alex Media Komputindo; 2005.
64. Dahlan MS. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. 3rd ed. Penerbit Salemba Medika; 2011.
65. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test, Approved Standard Eleventh Edition*. Clin Lab Stand Inst. 2012;32(1).

66. Deepa, K, Jeevitha, T, Michael, A. In Vitro Evaluation of Virulence Factors of Candida species Isolated From Oral Cavity. J Microbiol Antimicrob. 2015 Mar 31;7(3):28–32.