

Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Terhadap *Candida albicans*

Citra Yuditha Fadillah^{1,2}, Ahmad Wildan Al-Mukholladun², Vilya Syafriana^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh. Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640

²PT Bayer Indonesia, Jl. Raya Bogor No.km 32, Cisalak, Kec. Sukmajaya, Kota Depok, Jawa Barat 16416

* email korespondensi: v.syafriana@istn.ac.id

ABSTRAK

Anggur (*Vitis vinifera* L.) merupakan tanaman dari Famili Vitaceae yang diketahui memiliki kandungan bahan fitokimia yang banyak terkandung dalam kulit, buah, dan terutama didalam biji anggur, seperti golongan polifenol sebesar 5-8% berupa resveratrol, tanin, flavonoid, kuersetin, katekin, pektin, dan antosianin. Oleh karena kandungan senyawa-senyawa tersebut, biji anggur dapat dimanfaatkan sebagai antifungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak biji anggur, serta aktivitas antifunginya terhadap *Candida albicans*. Biji anggur diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:7,5 bagian dari simplisia selama 72 jam. Hasil maserasi yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*, lalu dilakukan penapisan fitokimia dan uji aktivitas antifungi. Penapisan fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan metode pereaksi perubahan warna meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin. Aktivitas antifungi dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji anggur mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin. Hasil uji aktivitas antifungi menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap *Candida albicans* dengan diameter zona hambat berturut-turut sebesar 12,03 mm; 16,35 mm; 20,08 mm; 22,08 mm; 25,06 mm; dan 29,03 mm pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Hasil ini dapat dikategorikan sebagai bahan yang memiliki aktivitas antifungi kuat dan sangat kuat berdasarkan Davis & Stout 1971.

Kata kunci: antifungi, *Candida albicans*, etanol, fitokimia, *Vitis vinifera*

Antifungal Activity of Ethanol Extract of Grape Seed (*Vitis vinifera* L.) Against *Candida albicans*

ABSTRACT

Grapes (*Vitis vinifera* L.) are plants from the Vitaceae Family which are known to contain phytochemicals which are found in the skin, fruit, and especially in grape seeds, such as the polyphenol group of 5-8% in the form of resveratrol, tannins, flavonoids, quercetin, catechins, pectins, and anthocyanins. Because of these chemical compounds, grape seed can be used as an antifungal agent. This study aims to screen the phytochemical compounds in grape seed extract, as well as antifungal activity against *Candida albicans*. Grape seeds were extracted by maceration using ethanol 96% with a ratio of 1:7.5 parts of simplicial for 72 hours. The maceration results were concentrated using a vacuum rotary evaporator, then phytochemical screening and antifungal activity test were performed. Screening was carried out qualitatively by using the color change reagent method including alkaloids, flavonoids, tannins, terpenoids, and saponins. Antifungal activity was carried out using the disc diffusion method with concentrations of 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, and 50%. The results of phytochemical screening showed that the ethanol extract of grape seed contained alkaloids, flavonoids, tannins, terpenoids, and saponins. The results of the antifungal activity test showed that there was inhibitory activity against *Candida albicans* with the inhibition zone diameter of 12.03 mm, 16.35 mm, 20.08 mm, 22.08 mm, 25.06 mm, and 29.03 mm respectively at a concentration of 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, and 50%. These results can be categorized as materials that have strong and very strong antifungal activity based on Davis & Stout 1971.

Keywords: antifungal, *Candida albicans*, ethanol, phytochemicals, *Vitis vinifera*

PENDAHULUAN

Candidiasis telah muncul sebagai salah satu infeksi nosokomial yang paling penting di seluruh dunia

dengan angka morbiditas, mortalitas dan pembiayaan kesehatan yang bermakna (Simatupang, 2009). Kondisi Indonesia dengan pertambahan jumlah penduduk, memburuknya kualitas kebersihan lingkungan pun menjadi salah satu akibat penyakit ini bermunculan, karena penyakit ini adalah salah satu penyakit yang berasal dari udara dan dapat memasuki tubuh melalui saluran pernafasan atau saluran lainnya (Brooks *et al.*, 2007). *Candidiasis* dapat diakibatkan oleh lima tipe fungi dari genus *Candida*, yaitu *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, dan *Candida guilliermondi*. Dari kelima tipe fungi tersebut, *Candida albicans* adalah yang paling sering ditemukan pada penderita (Gravina *et al.*, 2007).

Berbagai pengobatan yang dapat dilakukan untuk menghindari penyakit ini diantaranya dengan mengurangi atau menghilangkan sampai dengan menggunakan obat-obatan antifungi (Pappas *et al.*, 2004). Tetapi pada beberapa kasus, penggunaan obat antifungi juga dapat menyebabkan resistensi yang bisa diakibatkan oleh penggunaan obat jangka panjang, sehingga tujuan awal pengobatan tidak tercapai (Igoli *et al.*, 2000). Obat antifungi lini pertama seperti klotrimazol juga memiliki efek samping menimbulkan rasa tidak nyaman pada rongga mulut, peningkatan level enzim hati, serta mual ataupun muntah. Oleh sebab itu, pengobatan alami yang berasal dari bahan-bahan alam yang memiliki zat berkhasiat tertentu mulai banyak dikembangkan dan menjadi salah satu alternatif sebagai obat anti fungi (Cowan, 199; Pappas *et al.*, 2004).

Anggur (*Vitis vinifera* L.) mengandung bahan fitokimia yang banyak terkandung dalam kulit, buah, dan terutama didalam biji anggur, antara lain adalah golongan polifenol sebesar 5-8% berupa resveratrol, tanin, flavonoid, kuersetin, katekin, pektin, tannin dan antosianin sehingga mempunyai berbagai macam khasiat, diantaranya bisa mencegah terjadinya infeksi fungi (Xia *et al.*, 2010).

Abramovic *et al.* (2012) melaporkan bahwa ekstrak buah anggur memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 100% sebesar 13,01 mm. Biji anggur padahal diketahui memiliki kandungan bahan fitokimia yang lebih besar dibandingkan buahnya (Abramovic *et al.*, 2012). Pemanfaatan biji anggur saat ini belum maksimal, sebagai contoh dalam pembuatan jus anggur ataupun *wine* putih, biji anggur dipisahkan dari proses karena dapat mempengaruhi kualitas dari produk akhir terutama pada proses fermentasi pada pembuatan *wine* dan tidak dipergunakan lagi (Xia *et al.*, 2010). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antifungi dengan memanfaatkan biji anggur.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Bahan uji dalam penelitian adalah 1 kg biji dari buah anggur (*Vitis vinifera* L.), yang diperoleh dari Perkebunan Anggur, Probolinggo yang tidak dipergunakan dalam pembuatan minuman sari anggur ataupun *wine* di PT. X dengan usia panen 90-100 hari setelah pemangkasan (Askary *et al.*, 2012). Bahan lainnya

adalah aquades steril, etanol (C₂H₅OH) 96%, (Narda Tita), feri(III) klorida (FeCl₃) (Merck), natrium klorida (NaCl) serbuk (Merck), asam hidroklorida (HCl) (Merck), pereaksi Wagner (Merck), asam dihidrosulfat (H₂SO₄) (Merck), gelatin (Sigma Aldrich), natrium hidroksida (NaOH) (Merck), Iodium (I₂) (Merck), kloramfenikol (Kalbe Farma), media *Saboraud Dextrose Agar* (Sigma Aldrich), dan inokulum *Candida albicans* (EZ CFU).

Alat. Alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya *vacuum rotary evaporator* (Butchi), *pH meter* (Butchi), pipet volumetri (Pyrex), pipet tetes, labu ukur (Pyrex), piala gelas 1000 ml (Pyrex), cawan petri, dispenset (Socorex), laminar air flow (Heraeus), kertas saring, cakram 5 mm (Pall Corporate), alumunium foil, inkubator fungi (Heraeus), autoklaf (Hirayama) dan jangka sorong (Mitutoyo).

Metode.

Ekstraksi. Biji dari buah anggur segar dicuci dan dikeringkan pada oven dengan suhu di bawah 50°C (Kumalasari & Sulistyani, 2011). Biji yang telah kering dihaluskan dengan diblender, ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah. Serbuk biji anggur kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan sebesar 1:7,5 antara simplisia dengan pelarut, kemudian wadah ditutup dengan alumunium foil selama 24 jam dengan remaserasi 2x. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu maksimal 50°C hingga pelarut habis dan diperoleh ekstrak kental (Robinson, 1991).

Pemeriksaan Bebas Etanol 96%. Sebanyak 5 ml ekstrak ditambahkan 1 ml Natrium Hidroksida 1 N secara perlahan-lahan, kemudian didiamkan selama 3 menit, lalu ditambahkan 2 ml iodium 0,1 N maka timbul bau iodoform dan terbentuk endapan kuning. Jika tidak menimbulkan bau dan tidak menyebabkan timbulnya endapan kuning maka reaksi dinyatakan negatif dan menunjukkan bahwa ekstrak sudah tidak mengandung etanol (Nugroho, 2011).

Penapisan Fitokimia. Penapisan fitokimia dilakukan berdasarkan Robinson (1991) dengan menguji alkaloid, flavonoid, tanin dan polifenol, saponin, dan terpenoid.

Pengujian Alkaloid. Ekstrak diambil sebanyak 1 ml, kemudian ditambahkan HCl 2M, ekstrak kemudian dipanaskan di atas air sambil diaduk hingga menimbulkan gelembung udara, kemudian ekstrak yang sudah panas didinginkan hingga suhu 25°C. NaCl serbuk ditambahkan, diaduk dan disaring, kemudian filtrat ditambah HCl 2M hingga 10 ml. Filtrat dibagi ke dalam 2 tabung reaksi, tabung 1 ditambah dengan reagen Wagner dan tabung 2 sebagai blanko. Tabung 1 diamati terbentuknya endapan dan dibandingkan dengan larutan blanko pada tabung 2. Jika tidak terbentuk endapan, bahan tidak mengandung alkaloid dan jika terbentuk endapan pada bahan terdapat alkaloid.

Pengujian Flavonoid. Ekstrak dilarutkan dengan etanol 96% dibagi menjadi 2 tabung. Tabung 1 sebagai blanko dan tabung 2 ditambah dengan 2 tetes HCl pekat. Warna yang terbentuk diamati dan dibandingkan dengan larutan blanko. Larutan dihangatkan di atas pemanas air selama 15 menit, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Terbentuknya warna merah kuat atau violet, menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Pengujian Tanin dan Polifenol. Ekstrak ditambahkan akuades panas, kemudian diaduk dan didinginkan. Setelah itu lima tetes NaCl 10% ditambahkan dan disaring. Filtrat dibagi menjadi bagian A, B, dan C. Filtrat A sebagai blanko, ke dalam filtrat B ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl₃ dan ke dalam filtrat C ditambah larutan gelatin, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Jika terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin terkondensasi dan warna selain warna di atas menunjukkan adanya polifenol. Tanin jika ditambah larutan gelatin akan terjadi endapan.

Pengujian Terpenoid. Ekstrak diletakkan pada plat kemudian ditambah asam asetat anhidrat sampai terendam dan dibiarkan selama 5 menit, kemudian ditambah H₂SO₄ pekat. Perubahan warna menjadi biru atau biru-hijau menunjukkan positif triterpenoid.

Pengujian Saponin. Ekstrak sebanyak 2 ml diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Ekstrak ditambah akuades dengan perbandingan ekstrak dan akuades 1 : 1, kemudian dikocok dan didiamkan. Jika terbentuk buih yang tidak menghilang selama 30 menit, maka ekstrak tanaman tersebut mengandung saponin.

Pembuatan Inokulum Fungi. Stok fungi yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi PT Bayer Indonesia dengan merek dagang *E.A CFU Candida albicans*. Fungi tersebut diremajakan terlebih dahulu ke dalam medium SDA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Sebanyak satu ose biakan fungi disuspensikan ke dalam 10 ml larutan fisiologis NaCl, kemudian kekeruhan inokulum fungi disesuaikan dengan kekeruhan larutan McFarland 0,5 (setara dengan 1 x 10⁸ CFU/ml). Inokulum diencerkan hingga mencapai 10⁶ CFU/ml.

Uji Aktivitas Antifungi. Media perbenihan dituang kurang lebih 15 ml dicampurkan dengan 1 ml inokulum fungi 10⁶ CFU/ml diaduk hingga homogen, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga merata dan membeku. Cakram yang telah direndam selama 5 menit dalam larutan uji pada masing-masing konsentrasi diletakkan di atas media tersebut dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 hari. Control positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah klotrimazol 1% (Canesten®).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Maserasi dipilih karena merupakan proses pembuatan ekstrak yang mudah, kandungan bahan yang dapat tersari sebesar minimum 50% dan dengan penggunaan alat yang sederhana, yakni hanya dengan menggunakan bejana yang memiliki tutup dan pengaduk. Keuntungan maserasi lainnya adalah dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Hal tersebut dikarenakan proses maserasi dilakukan pada suhu 25°C – 30°C. Kelemahan dari maserasi adalah waktu pengerjaannya memerlukan waktu yang lama, yaitu berkisar 2-5 hari. Selain itu, maserasi memerlukan cairan penyari dalam jumlah banyak (Purba, 2011).

Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dikarenakan etanol diketahui lebih efektif, tidak beracun, bersifat netral, memiliki daya absorpsi yang baik, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit sehingga zat yang akan disari tidak rusak. Gugus OH dalam etanol membantu melarutkan molekul polar dan ion-ion serta gugus alkalinnya dapat mengikat bahan non-polar. Dengan demikian etanol dapat melarutkan senyawa non-polar maupun polar (Sangi *et al.*, 2008).

Pengujian bebas pelarut etanol pada ekstrak biji anggur setelah pemekatan dilakukan untuk mengetahui keberadaan etanol yang digunakan sebagai cairan penyari. Hal tersebut dilakukan untuk memastikan tidak terdapat etanol di dalam ekstrak biji anggur, karena kadar etanol di atas 20%, dapat menghambat pertumbuhan fungi (Sjahid, 2008). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak biji anggur negatif terhadap kandungan etanol.

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang dimiliki oleh ekstrak biji anggur. Berdasarkan pengujian fitokimia didapatkan bahwa ekstrak biji anggur memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol biji anggur

Senyawa Kimia	Hasil Pengamatan
Alkaloid	(+)
Flavonoid	(+)
Tanin	(+)
Triterpenoid	(+)
Saponin	(+)

Keterangan. (+): mengandung senyawa kimia yang diuji

Pengujian aktivitas antifungi dengan penentuan diameter zona hambat bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak biji anggur terhadap fungi *C. albicans*. Uji aktivitas antifungi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi dipilih untuk mengetahui seberapa besar daya hambat zat uji terhadap fungi uji. Metode difusi memiliki kelebihan yakni peralatan yang dipergunakan sederhana dan hasil yang didapatkan baik (Kumalasari & Sulistyani, 2011). Hasil pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol biji anggut terhadap fungi *Candida albicans*

Konsentrasi Larutan Uji	Diameter Zona Hambat (mm)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Rerata
5%	12,02	12,04	12,03
10%	16,33	16,37	16,35
20%	20,07	20,08	20,08
30%	22,09	22,06	22,08
40%	25,07	25,04	25,06
50%	29,04	29,01	29,03
Klotrimazol 1% (Canesten®)	25,09	25,11	25,10

Berdasarkan data pada Tabel 2 tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi pula diameter zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan Lingga et al. (2016), semakin besar konsentrasi ekstrak menandakan semakin banyak senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut, sehingga akan memengaruhi aktivitas penghambatan terhadap mikroba. Hasil juga menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan ekstrak etanol biji anggur terhadap *Candida albicans* tergolong kuat dan sangat kuat. Hal ini berdasarkan Davis & Stout yang mengategorikan penghambatan suatu zat terhadap mikroba menjadi 4, yaitu lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-19 mm), dan sangat kuat (≥ 20 mm). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada konsentrasi 5% dan 10% tergolong aktivitas kuat dikarenakan memiliki diameter zona hambat sekitar 12,03 mm dan 16,35 secara berurutan. Hasil pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% menunjukkan bahwa ekstrak tergolong sangat kuat dikarenakan nilai diameter zona hambat lebih dari 20 mm.

Besarnya aktivitas antifungi ini kemungkinan dikarenakan oleh kandungan bahan fitokimia yang ada di dalam biji anggur, seperti alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin. Alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun dinding sel fungi, sehingga lapisan dinding sel fungi tidak terbentuk utuh dan menyebabkan kematian sel (Verhaegen et al., 2011). Flavonoid yang merupakan senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan membran sel sehingga terjadi kebocoran isi sel dan berakibat lisis. Hal tersebut menyebabkan pemasukan bahan atau zat-zat yang diperlukan dapat terganggu akhirnya sel membengkak dan pecah (Titis et al., 2013). Tanin mampu menghambat aktivitas enzim glikosiltransferase. Enzim tersebut merupakan enzim yang terdapat pada membran plasma dan bertanggung jawab untuk konstruksi dinding sel fungi. Terpenoid bekerja dengan berinteraksi pada protein transmembran pada membran luar dinding sel fungi, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga menyebabkan protein transmembran rusak. Protein transmembran yang rusak menyebabkan keluar masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel fungi, sehingga mengakibatkan sel fungi kekurangan nutrisi, pertumbuhan terhambat, dan mati (Verhaegen et al., 2011). Saponin bekerja dengan berinteraksi dengan sel fungi melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah akan terbentuk kompleks protein yang ikatannya lemah dan menyebabkan peruraian diikuti penetrasi ke dalam sel yang mengakibatkan denaturasi protein, sedangkan pada

kadar tinggi mampu menyebabkan koagulasi protein dan lisisnya sel (Roninson, 1991).

KESIMPULAN

Ekstrak biji anggur memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* yang tergolong kuat pada konsentrasi 5% dan 10%, sedangkan pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% tergolong sangat kuat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada PT Bayer Indonesia dan Fakultas Farmasi ISTN yang telah memberikan fasilitas tempat untuk melakukan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abramovic, H., Terpinc, P., Generalic, I., Skroza, D., Klančnik, A., Katalinic, V., et al. (2012). Antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and vine (*Vitis vinifera*) leaves, Croat. *J. Food Sci. Technol.*, 14(1): 1-8.
- Askary, G.A., Kahouadji, A., Mousaddak, M., Ouaffak, L., Charof, R., & Mennae, Z. (2012). Evaluation of Antimicrobial Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Leaves of *Vitis vinifera* Collected from Different Regions in Morocco, *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 12 (1): 85- 90.
- Brooks G.F., Carrol K.C., Butel J.S., & Morse S.A. (2007). *Medical Microbiology 24th ed.* Mc Graw Hill: 642-645.
- Cowan, M. (1999). Plant Product as Antimicrobial Agent. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564- 582.
- Davis & Stout. (1971). Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*. Vol 22 No 4.
- Gravina, HG, de Morán, EG, Zambrano, O,Chourio, ML, de Valero, SR, Robertis, S, Mesa L. (2007). Oral Candidiasis in children and adolescents with cancer: Identification of *Candida*.spp. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.*, 12: E419-23.
- Igoli, J. O., Tor-Anyiin, T. A., Usman, S. S., Olluma, H. O. A., & Igoli, N. P. (2000). Folk Medicines of

- The Lower Benue Valley of Nigeria In:Recent progression in Medicinal plants. *Ethnomedicine and Pharmacognosy part II*, 1: 327-338.
- Kumalasari, E. & N. Sulistyani (2011). Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 1(2): 51– 62.
- Lingga, A.R., Pato, U., & Rossi, E. (2016). Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*, 3(1), 1-15.
- Nugroho, A. E. (2011). Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dari Kulit Buah yang Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. Hal. 3.
- Pappas, PG., Rex, JH., Sobel, JD., Filler, SG., Dismukes, WE., Walsh, TJ., Edwards, JE. (2004). Guidelines for Treatment of Candidiasis, 38: 161-89.
- Purba, R.D. (2011). Analisis Komposisi Alkaloid Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum* (Linn), Griff) yang Dibudidayakan dengan Taraf Nitrogen yang Berbeda. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Robinson, T. (1991). Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi, diterjemahkan oleh Kosasih. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hal. 132.
- Sangi, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I. Simbala., V.M.A. Makang. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog*, 1(1): 47-53.
- Simatupang, M.M. (2009). *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran XVII USU*, 4-5.
- Sjahid, L.R.. (2008). Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Titis, M. B. M., E. Fachriyah, & D. Kusriani. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chem. Info.*, 1 (1): 196 –201.
- Verhaegen, J. F., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P., & Heuck, C. C. (2011). *Prosedur Laboratorium Dasar Untuk Bakteriologi Klinis*, diterjemahkan oleh Lyana, S. & Diana, S., Edisi 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Xia, En-Qin, Deng, Gui-Fang, Guo, Ya-Jun, Li, Hua-Bin. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 622-646.