

pISSN: 0126-074X; eISSN: 2338-6223; <http://dx.doi.org/10.15395/mkb.v49n1.984>

Aktivitas Antijamur Fraksi Air Sarang Semut *Myrmecodia Pendens* Pada *Candida Albicans* ATCC 10231

Felisha Febriane Balafif,¹ Mieke H. Satari,² Diah Dhianawaty³¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran ²Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, ³Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran

Abstrak

Penggunaan tanaman herbal untuk pengobatan dan pencegahan penyakit semakin populer sehingga penelitian mengenai senyawa aktif dari tumbuhan yang berkhasiat semakin menjadi perhatian. Umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens*) mengandung senyawa aktif berupa terpenoid, tanin, fenol, flavonoid, dan saponin yang memiliki efek antijamur pada *Candida albicans*. Penelitian ini bertujuan mengukur konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) fraksi air *M. pendens* dan menguji perbedaan efek antijamur antara fraksi air *M. pendens* dan nistatin pada *C. albicans* ATCC 10231. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni–Juli 2015 di Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran. Penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi dan nilai KHM diukur dengan *enzyme linked immunosorbent assay reader* dan nilai KBM diukur dengan pengujian pada media agar. Data dianalisis menggunakan uji-t dengan level signifikan $p < 0,05$ untuk menentukan perbedaan efek antijamur fraksi air *M. pendens* dengan nistatin pada *C. albicans*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai KHM ialah 1.250 µg/mL dan nilai KBM ialah 2.500 µg/mL. Simpulan penelitian ini ialah nilai KHM serta KBM fraksi air *M. pendens* ialah 1.250 dan 2.500 µg/mL dan terdapat perbedaan efek antijamur antara fraksi air dan nistatin terhadap *C. albicans*. [MKB. 2017;49(1):28–34]

Kata kunci: *Candida albicans*, fraksi air, konsentrasi bunuh minimum, konsentrasi hambat minimum, *Myrmecodia pendens*

Antifungal Activity of Ant Hill *Myrmecodia Pendens* Water Fraction against *Candida Albicans* ATCC 10231

Abstract

The use of herbal plant for treatment and prevention of diseases is getting more popular, emphasizing the need for studies on active compounds from plants. Ant hill (*Myrmecodia pendens*) contains active compounds such as terpenoid, tannin, phenol, flavonoid, and saponin which have antifungal effects on *Candida albicans*. The objectives of the study were to measure the value of minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum fungicidal concentration (MFC) of water fraction of *M. pendens* and antifungal effect of water fractions of *M. pendens* against *C. albicans* compared to nystatin. This study used microdilution and the effects were measured with enzyme linked immunosorbent assay reader to determine MIC value, followed by agar media assay to determine MFC. Data were analyzed using T test with significant level $p < 0.05$ to determine antifungal effect of water fractions of *M. pendens* against *C. albicans* compared to nystatin. The result showed that MIC value was 1.250 µg/ml and MFC value was 2.500 µg/ml. T test showed significant difference of % inhibition cells growth effect between *M. pendens* water fraction and nystatin ($p = 0.014 < 0.05$). It is concluded that the *M. pendens* water fraction has an antifungal effect against *C. albicans* with MIC and MFC values of 1.250 and 2.500 µg/ml. There are differences in antifungal effects between water fraction of *M. pendens* and nystatin against *C. albicans*. [MKB. 2017;49(1):28–34]

Key words: *Candida albicans*, minimum fungicidal concentration, minimum inhibitory concentration, *Myrmecodia pendens*, water fraction

Korespondensi: Felisha Febriane Balafif, drg., Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Jalan Sekeloa Selatan No.1, Bandung, Jawa Barat, *mobile:* 082214620286, *e-mail:* feli.drg@gmail.com

Pendahuluan

Sebagian besar infeksi jamur pada rongga mulut disebabkan oleh *C. albicans*. Infeksi rongga mulut yang disebabkan oleh *C. albicans* disebut kandidiasis.^{1,2} Pengobatan kandidiasis pada rongga mulut biasanya mempergunakan obat antijamur topikal, di antaranya nistatin. Mekanisme kerja nistatin melalui pengikatan sterol pada membran sel jamur.³

Pengobatan menggunakan tanaman herbal saat ini semakin populer sehingga penelitian mengenai bahan obat dari tumbuhan yang berkhasiat untuk pengobatan sebagai alternatif penggunaan obat-obatan kimia semakin menjadi perhatian. Salah satu tumbuhan obat adalah umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry). Penelitian sebelumnya menemukan kandungan dari senyawa aktif ekstrak etanol tumbuhan ini berupa flavonoid, tanin, terpenoid, fenol, dan alkaloid.⁴ Penelitian pendahuluan mendapatkan kandungan senyawa fraksi air tanaman ini adalah flavonoid, tanin, terpenoid, fenol, dan saponin.

Flavonoid, tanin, terpenoid, fenol, dan saponin mempunyai efek biologis sebagai antibakteri dan antijamur. Mekanisme kerja senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, fenol, dan saponin ialah melalui perusakan fungsi membran sel jamur.^{5,6,7} Uji fitokimia fraksi air *M. pendens* pada penelitian pendahuluan yang menunjukkan kandungannya, yaitu fenol, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tannin yang mempunyai efek sebagai antijamur.

Penelitian efek antijamur fraksi air *M. pendens* sangat menarik untuk dilakukan dengan menganalisis efeknya sebagai antijamur dan dicari nilai konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum pada *C. albicans*. Peneliti tertarik menguji fraksi air *M. pendens* disebabkan oleh kandungan senyawa pada uji fitokimia fraksi tersebut mempunyai efek antijamur. Sampai sejauh ini belum ditemukan data ilmiah mengenai kemampuan antijamur fraksi air *M. pendens* pada *C. albicans*. Tujuan penelitian ini adalah menguji kemampuan anti jamur serta mengukur konsentrasi hambat minimum (KHM) dan juga konsentrasi bunuh minimum (KBM) fraksi air *M. pendens* pada *C. albicans*.

Metode

Umbi sarang semut tersebut dipotong kecil-kecil sebanyak 300 gram. Hal ini dilakukan agar dapat memperbesar luas permukaan dan

memecah dinding-dinding sel sampel sehingga kelompok senyawa kimia yang terkandung di dalamnya dapat terekstraksi secara maksimal. Umbi sarang semut kemudian diekstraksi dengan metanol (MeOH) sebanyak 600 mL yang dipanaskan selama 16 jam. Ekstrak metanol cair lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 46°C untuk membuang pelarut sehingga dihasilkan ekstrak pekat metanol umbi sarang semut dengan konsentrasi 100%.

Ekstrak pekat metanol dilarutkan dalam air suling dan dilakukan partisi dengan corong pisah berdasar atas kepolaran zat yang terkandung dalam ekstrak umbi sarang semut. Mula-mula, ekstrak metanol pekat ditempatkan pada corong pisah, kemudian ditambah dengan pelarut air suling sebanyak 100 mL. Selanjutnya, dikocok sampai semuanya larut, didiamkan beberapa saat, kemudian terlihat 2 bagian yang terpisah, yaitu fraksi larutan air di bagian atas dan fraksi ekstrak di bagian bawah. Fraksi air kemudian ditampung dalam gelas erlenmeyer. Fraksi larutan air dimasukkan ke dalam evaporator untuk mendapat fraksi air pekat. Senyawa yang terkandung dalam fraksi air bersifat polar.

Jamur yang digunakan pada penelitian ini ialah *Candida albicans* ATCC 10231. Jamur ini terlebih dahulu diremajakan dengan cara memperbanyak jamur pada medium *saboraud dextrose agar* (SDA) dan diinkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C. Sebanyak satu ose dari hasil subkultur diambil dan disuspensikan ke dalam 5 mL medium cair Mueller Hinton sesuai dengan standar 0,5 McFarland.

Sebanyak 10.000 µg fraksi air *M. pendens* dicampur dengan 1 mL DMSO sehingga didapat konsentrasi 10.000 µg/mL, dan seterusnya melarutkan fraksi air *M. pendens* dalam DMSO sehingga didapat konsentrasi 5.000 µg/mL, dan 2.500 µg/mL. Pembuatan konsentrasi nistatin dilakukan dengan menambahkan 50 µg nistatin ke dalam 1 mL air sehingga didapat konsentrasi 50 µg/mL.

Uji daya hambat jamur ekstrak metanol dan fraksi *M. pendens* pada *C. albicans* dilakukan dengan menuangkan 28–30 mL medium Mueller-Hinton ke dalam cawan petri berdiameter 100 mm dengan ketebalan sekitar 4 mm dan didiamkan sampai membeku.¹⁰ Suspensi *C. albicans* yang setara dengan kekeruhan 0,5 McFarland diambil sebanyak 0,1 mL dan ditanam menggunakan *cotton bud* pada lempeng agar. Sebanyak 5 buah cakram kertas berdiameter 8 mm ditetesi 50 µL fraksi air umbi sarang semut dengan konsentrasi 10.000 µg/mL, 5.000 µg/mL, dan 2.500 µg/mL pada cakram kertas pertama,



Gambar 1 Uji Daya Hambat Fraksi Air terhadap *C. albicans*

kedua, dan ketiga, kemudian diteteskan 50 µL nistatin dengan konsentrasi 50 µg/mL ke dalam cakram kertas keempat sebagai kontrol atau pembandingan. Cakram kertas kelima ditetesi cairan pelarut DMSO. Tiap-tiap cakram kertas diletakkan pada permukaan medium agar yang selanjutnya diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam. Uji ini dilakukan secara duplo. Diameter daerah hambatan diukur dengan cara menghitung diameter daerah hambat dikurangi diameter cakram.⁹

Prosedur konsentrasi hambat minimum atau KHM dilakukan dengan metode mikrodilusi dan diukur dengan alat ELISA reader untuk membaca absorbansi dari tiap-tiap sumur. Penentuan KHM diukur dengan menghitung persentase penghambatan jamur yang dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Penghambatan sel} = \left[1 - \frac{OD_{MSJ} - OD_{MS}}{OD_{MPJ} - OD_{MP}} \right] \times 100 \%$$

Keterangan :
 M=medium
 S=sampel
 J=jamur
 P=pelarut
 OD=optical density

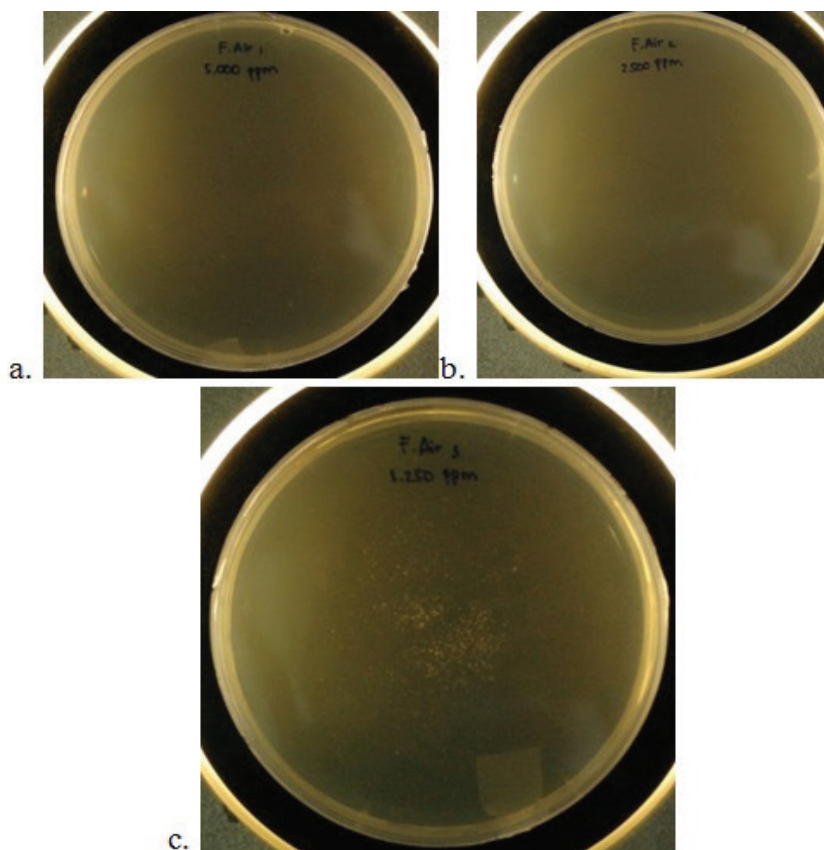
Konsentrasi bunuh minimum (KBM) adalah konsentrasi antimikrobyang dapat menghasilkan pengurangan 99,9% organisme dari konsentrasi organisme awal. KBM itu didapatkan dengan menguji pada media agar Mueller Hinton pada konsentrasi di atas KHM fraksi umbi sarang semut sampai didapatkan konsentrasi yang dapat membunuh 99,9% *C. albicans*.⁹

Analisis data dilakukan dengan uji-t untuk menentukan perbedaan efek antijamur antara fraksi air *M. pendens* dan nistatin pada *C. albicans*.

Tabel 1 Hasil Uji Daya Hambat Fraksi Air *M. Pendens* terhadap *C. albicans*

Sampel dan Konsentrasi	Diameter Penghambatan (mm)		Rata-rata	Keterangan
	1	2		
Fraksi air <i>M. pendens</i> 10.000	9,7	9,7	9,7	Memiliki daya hambat
Fraksi air <i>M. pendens</i> 5.000	8,9	9,2	9,05	Memiliki daya hambat
Fraksi air <i>M. pendens</i> 2.500	9,1	8,9	9	Memiliki daya hambat
Kontrol positif nistatin 50	17,1	17,6	17,35	Sensitif
Kontrol pelarut DMSO				Tidak memiliki daya hambat

Keterangan: diameter kertas cakram 8 mm; uji daya hambat dilakukan secara duplo



Gambar 2 Fraksi Air pada Sumur Kolom Pertama, Kedua, dan Ketiga dengan Konsentrasi 5.000 µg/mL, 2.500 µg/mL, dan 1.250 µg/mL Ditanam pada Media Lempeng Agar

Data persentase penghambatan sel digunakan untuk menentukan perbedaan efek antijamur tersebut. Level signifikan adalah nilai $p < 0,05$. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni–Juli 2015 di Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran.

Hasil

Sebanyak 300 gram *M. pendens* diekstraksi dengan metanol 600 mL yang menghasilkan 22 gram ekstrak pekat metanol. Ekstrak pekat ditambahkan 100 mL air suling ditempatkan pada corong pisah hingga terpisah menjadi 2 bagian, yaitu fraksi larutan air di bagian atas dan fraksi ekstrak di bagian bawah. Fraksi larutan air kemudian dievaporasi dan menghasilkan fraksi air pekat. Fraksi air pekat *M. pendens* yang didapatkan adalah 11,9 gram. Hasil uji daya hambat fraksi air terhadap *C. albicans* memperlihatkan diameter penghambatan pada konsentrasi 10.000, 5.000, dan 2.500 µg/mL

(Gambar 1). Diameter penghambatan pada fraksi air pada konsentrasi 10.000, 5.000, dan 2.500 µg/mL memiliki nilai 9,7 mm, 9,05 mm, dan 9 mm (Tabel 1). Hasil uji ini menunjukkan bahwa fraksi air memiliki efek antijamur pada *C. albicans*.

Hasil pembacaan nilai *optical density* (OD) dapat dihitung menggunakan rumus persentase penghambatan sel untuk mencari konsentrasi hambat minimumnya. Hasil perhitungan nilai konsentrasi minimal fraksi air dan juga nistatin yang memiliki kemampuan penghambatan sel terhadap *C. albicans* disajikan pada Tabel 2.

Hasil perhitungan persentase penghambatan sel dapat dilihat pada Tabel 2. Nilai penghambatan sel bernilai positif pada fraksi air dimulai dari konsentrasi 1.250, 2.500, dan 5.000 µg/mL dan pada nistatin dimulai dari konsentrasi 0,781 sampai 50 µg/mL. KHM fraksi air ditentukan pada konsentrasi 1.250 µg/mL dan KHM nistatin pada konsentrasi 0,781 µg/mL. Nilai KHM fraksi air *M. pendens* lebih besar dibanding dengan nilai KHM nistatin.

Tabel 2 Presentasi Penghambatan *C. albicans* pada Fraksi Air dan Nistatin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	%Penghambat <i>C. albicans</i>	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	%Penghambat <i>C. albicans</i>
	Fraksi air <i>M. pendens</i>		Nistatin
5.000	81,31	50	89,90
2.500	90,65	25	89,07
1.250	21,68	12,5	84,47
625	-20,56	6,25	90,71
312,5	-58,55	3,125	89,79
156,25	-9,15	1,563	88,08
78,125	-62,24	0,781	86,67
39,062	-2,94	0,391	-4,55
19,531	-14,71	0,195	-6,72
9,766	-1,18	0,098	-2,5
4,883	-1,94	0,049	-2,47
2,441	-2,14	0,024	-2,05

KBM fraksi air dan juga nistatin didapatkan dengan cara menguji pada lempeng agar dari konsentrasi KHM sampai ditemukan konsentrasi yang mampu membunuh *C. albicans*. Fraksi air pada sumur pertama sampai ketiga dan nistatin pada sumur pertama sampai keenam dilakukan uji pada lempeng agar.

Perlakuan (media, sampel, dan jamur) pada fraksi air dengan konsentrasi 1.250, 2.500, 5.000 $\mu\text{g/mL}$ yang berasal dari sumur pertama sampai ketiga di *microplate* diuji kembali pada media agar Mueller Hinton. Berdasar atas Gambar 2, fraksi air pada sumur kolom pertama, kedua, dan ketiga dengan konsentrasi 5.000 $\mu\text{g/mL}$, 2.500 $\mu\text{g/mL}$, dan 1.250 $\mu\text{g/mL}$ ditanam pada media lempeng agar pada Gambar 2. Lempeng agar dengan konsentrasi 5.000 $\mu\text{g/mL}$ dan 2.500 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan zona yang jernih tidak ada pertumbuhan *C. albicans*. Lempeng agar pada konsentrasi 1.250 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan mulai terdapat pertumbuhan *C. albicans* sehingga KBM fraksi air ditentukan pada konsentrasi 2.500 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil uji yang berasal dari nistatin pada sumur kolom pertama sampai keenam ditanam pada lempeng agar pada Gambar 3, yaitu pada konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 12,5 $\mu\text{g/mL}$, dan 6,25 $\mu\text{g/mL}$, 3,125 $\mu\text{g/mL}$, 1,563 $\mu\text{g/mL}$. Lempeng agar pada konsentrasi 3,125 $\mu\text{g/mL}$ sampai 50 $\mu\text{g/mL}$ memperlihatkan zona jernih. Hal ini menunjukkan tidak ada pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi tersebut. Lempeng agar pada konsentrasi 1,563 $\mu\text{g/mL}$ mulai

memperlihatkan pertumbuhan *C. albicans*. KBM nistatin ditentukan pada konsentrasi 3,125 $\mu\text{g/mL}$ karena pada konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi paling kecil yang memberikan zona jernih tanpa pertumbuhan *C. albicans*.

Analisis perbedaan efek antijamur antara fraksi air *M. pendens* dan juga nistatin sebagai kontrol positif didapatkan melalui analisis data persentase penghambatan *C. albicans* terlihat pada Tabel 2. Analisis data yang dipergunakan adalah uji-t. Nilai p berdasarkan Tabel 3 adalah 0,014. Nilai p lebih kecil dari 0,05. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna efek antijamur antara fraksi air dan nistatin dilihat dari penghambatan sel *C. albicans*.

Pembahasan

Uji kepekaan fraksi *M. pendens* dilakukan untuk mengetahui efek antijamur terhadap *C. albicans*. Hasil uji fitokimia pada penelitian pendahuluan memperlihatkan kandungan fraksi air, yaitu senyawa fenol, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin.

Perbedaan nilai KHM dan KBM antara fraksi air dan nistatin pada pertumbuhan *C. albicans* diduga terjadi karena perbedaan mekanisme kerja fraksi air *M. pendens* dengan nistatin. Nistatin merupakan salah satu standar emas obat antijamur lokal di rongga mulut, sedangkan *M. pendens* yang digunakan masih dalam tahap

fraksi. Mekanisme kerja nistatin berupa interaksi ikatan hidrogen atom H pada ergosterol dan atom O pada nistatin yang dapat menyebabkan pembentukan pori dalam membran sehingga terjadi kebocoran dan kehilangan kandungan sitoplasma sel jamur. Fraksi air mengandung tanin, terpenoid, fenol, flavonoid, dan saponin yang berperan sebagai antijamur.

Tanin sebagai antijamur akan bereaksi terhadap dinding sel dan menembus membran sel oleh karena dapat merusak protein. Sifat antimikrob tanin dapat berhubungan dengan hidrolisis ikatan ester di antara asam galat yang memengaruhi proses biosintesis terhadap sintesis dinding sel dan membran sel. Perubahan permeabilitas membran sel dapat menyebabkan penurunan volume sel.^{6,7,10,11}

Terpenoid memiliki sifat hidrofobik yang menyebabkan terpenoid dapat masuk ke dalam membran lipid. Mekanisme kerja terpenoid ialah gugus hidroksil yang menyebabkan efek toksik. Pemisahan ion H⁺ dari gugus OH⁻ menyebabkan terjadi pertukaran ion H⁺ dan kation seperti K⁺ melewati membran yang akhirnya mengganggu pH dan meningkatkan K⁺ melewati membran sel. Sifat antifungal terpenoid, yaitu kemampuan terpenoid melewati dinding sel jamur dan berada di antara rantai asam lemak lipid bilayer, mengganggu pembentukan lipid, dan mengubah struktur membran sel. Senyawa lipofilik tersebut berpenetrasi ke dalam sel dan mengganggu biosintesis ergosterol.^{6,7,12,13}

Fenol dapat mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membran sel itu menjadi lisis dan fenol menembus ke dalam inti sel. Senyawa fenol melalui gugus hidroksi akan berikatan dengan gugus sulfhidril protein jamur sehingga mampu mengubah bentuk protein membran sel. Posisi dan jumlah gugus hidroksil pada fenol yang berhubungan dengan toksisitas terhadap mikroorganisme. Makin tinggi fenol teroksidasi maka akan semakin tinggi aktivitas penghambatan.^{6,7,14}

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikrob adalah dengan merusak fungsi membran dan dinding sel. Sifat lipofilik flavonoid dapat mengganggu membran jamur.^{7,15} Saponin dengan tipe spirostanol mempunyai aktivitas terhadap *C. albicans* dan *C. galabrata*, serta *C. tropicalis*. Mekanisme saponin sebagai antijamur dapat merusak membran sel jamur dan menghambat pembentukan ragi.⁶

Senyawa aktif tersebut memiliki kemampuan antijamur terhadap *C. albicans* dengan merusak membran selnya. Senyawa tanin, terpenoid, fenol, flavonoid, dan saponin saling bersinergi

merusak membran sel dan dinding sel *C. albicans*. Selanjutnya, terpenoid memiliki gugus hidroksil yang bersifat toksik mengganggu biosintesis ergosterol dan juga pembentukan lipid. Tanin merusak protein dan mengganggu biosintesis dinding sel dan membran sel.

Analisis data penghambatan sel *C. albicans* melalui uji-t menunjukkan p bernilai 0,014. Nilai p lebih kecil dari 0,05 terdapat perbedaan penghambatan pertumbuhan *C. albicans* antara fraksi air dan nistatin. Perbedaan penghambatan pertumbuhan *C. albicans* menunjukkan terdapat perbedaan efek antijamur antara fraksi air dan nistatin. Fraksi air *M. pendens* memiliki kemampuan hambat 1/1600 dibanding dengan nistatin dan kemampuan bunuh fraksi air *M. pendens* memiliki nilai 1/800 dibanding dengan nistatin. Simpulan penelitian ini ialah nilai KHM fraksi air *M. pendens* yaitu 1.250. Nilai KBM fraksi air 2.500 µg/mL. Terdapat perbedaan penghambatan pertumbuhan *C. albicans* antara fraksi air dan nistatin. Efek antijamur fraksi air *M. pendens* jauh lebih rendah daripada nistatin.

Daftar Pustaka

1. Glick M. Burket's oral medicine. Edisi ke-12. USA: People's Medical Publishing House; 2015.
2. Coronado Castellote L, Jiménez-Soriano Y. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. J Clin Exp Dent. 2013;5(5):e279-86.
3. Semis R, Kagan S, Berdicevsky I, Polacheck I, Segal E. Mechanism of activity and toxicity of nystatin-intralipid. Med Mycol. 2013;51(4):422-31.
4. Sudiono J, Ciptadhi TO, Pretty. T The scientific base of *Myrmecodia pendens* as herbal remedies. Br J Med Medic Res. 2015; 8(3):230-7.
5. Martins N, Barros L, Henriques M, Silvia S. Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. Industrial Crops Product J. 2015;74:648-70.
6. Negri M, Salci TP, Shinobu-Mesquita CS, Capoci IRG, Svidzinski TIE, Kioshima ES. Early state research on antifungal natural products. J Molecules. 2014;19:2925-56.
7. Aboh M, Olayinka BO, Adeshina GO, Oladosu P. Antifungal activities of Phyto compounds from *Mitracarpus villosus* (Sw.) DC from Abuja, Nigeria. J Microbiol Res. 2014;4(2): 86-91.
8. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods

- for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *J Pharmaceuti Analysis*. 2016;6:71–9.
9. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. *Diagnostic microbiology*. Edisi ke-5. New York: Saunder Elsevier; 2014.
 10. Anibal PC, Peixoto IT, Foglio MA, Höfling JF. Antifungal activity of the ethanolic extracts of *Punica granatum* L. and evaluation of the morphological and structural modifications of its compounds upon the cells of *Candida* spp. *Braz J Micro*. 2013;44(3):839–48.
 11. Vikrant P, Priya J, Nirichan KB. Plants with anti-*Candida* activity and their mechanism of action: a review. *J Environ Res Develop*. 2015;9:1189–96.
 12. Fatriadi F. Pengaruh fraksi n heksana, fraksi air, dan fraksi etil asetat umbi sarang semut *Myrmecodia pendens* Merr. & Perry sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus sanguis* ATCC10566. Bandung: Pascasarjana FK Unpad; 2013.
 13. Mirona D, Battistia F, Silvab FK, Lanab AD, Pippib B, Casanovac B, dkk. Antifungal activity and mechanism of action of monoterpenes against dermatophytes and yeasts. *Rev Bras. Farmacogn*. 2014;24(6):660–7.
 14. Efendi YN, Triana H. Potensi antimikroba ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* jack) terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. *Trad Med J*. 2013;18(1):53–8.
 15. Filho AAO, de Oliveira HMBF, de Sousa JP, Meireles DRP, Maia GLA, Filho JMB, dkk. In vitro anti-*Candida* activity and mechanism of action of the flavonoid isolated from *Praxelis clematidea* against *Candida albicans* species. *J App Pharm Sci*. 2016;6(1): 66–9.