

Analisis Mikroflora *Candida albicans* pada Perokok dan Potensi Daya Hambat Ekstrak Daun Pacar Kuku *Lawsonia* sp. Terhadap Isolat *Candida albicans*

Andi Fatmawati^{1*}, Tuty Widyanti¹, Anita¹

¹*Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Muhammadiyah Makassar
E-mail: fatmawati.moe@gmail.com*

Abstrak

Salah satu mikroflora normal pada mulut yang dipengaruhi oleh keberadaan asap rokok adalah *Candida albicans*, jamur ini dapat berubah menjadi patogen jika terjadi perubahan dalam diri host. Perubahan yang terjadi pada host tersebut dapat bersifat lokal maupun sistemik yang dapat menyebabkan kandidiasis oral. Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis*) merupakan tanaman obat yang mengandung senyawa aktif yang berkhasiat yaitu senyawa lawsone (2-hydroxy-1, 4-naphthoquinone). Selain itu daun pacar kuku juga mengandung alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol, saponin, tannin, dan minyak atsiri. Salah satu khasiatnya adalah sebagai antijamur. Penelitian ini bertujuan mengetahui kolonisasi *Candida albicans* dari swab mukosa perokok dan kemampuan penghambatan ekstrak daun pacar kuku terhadap isolat *Candida albicans*. Penelitian ini bersifat ekperimental laboratorium dengan menggunakan teknik isolasi jamur secara swab dan metode uji daya ekstrak daun pacar dengan konsentrasi 15%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Hasilnya menunjukkan bahwa 90% swab mukosa mengandung kolonisasi *Candida albicans* dan uji ekstrak daun pacar kuku memperlihatkan terbentuknya zona bening tertinggi pada konsentrasi 100% dengan diameter sebesar 15.4 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun pacar kuku memiliki potensi inhibitor terhadap isolat *Candida albicans* dari swab mukosa perokok.

Kata kunci: *Candida albicans*, ekstrak daun pacar kuku, perokok, uji daya hambat

PENDAHULUAN

Oral candidiasis disebabkan oleh jamur *Candida*, yang biasanya terdapat dalam rongga mulut dari sekitar 50% orang yang sehat sebagai organisme komensal. Transformasi dari organisme komensal ke patogen tergantung pada intervensi faktor predisposisi yang berbeda-beda sehingga memodifikasi lingkungan mikro dari rongga mulut dan mendukung munculnya infeksi oportunistik. Adapun faktor-faktor yang mendukung munculnya infeksi oportunistik adalah iritasi lokal yang kronis, perawatan yang tidak sesuai, kortikosteroid, xerostomia, makanan yang dikonsumsi, gangguan imunologis dan endokrin, penyakit ganas dan kronis, diskrasia darah yang parah, paparan radiasi pada

kepala dan leher, nutrisi yang abnormal, usia, penyakit nokomial, displasia epitel oral dan perokok berat (Yanepoya, 2012; Parveen, 2013; Perez-Gracia *et al.*, 2014). Kejadian kasus kandidiasis oral sering terjadi seiring munculnya infeksi sekunder yang disebabkan oleh jamur *Candida* yang menghuni sekitar 50% rongga mulut orang sehat sebagai organisme komensal.

Rokok memiliki sejumlah komponen aktif yang dapat mengancam kesehatan. Komponen bahan aktif terdiri dari 92% komponen gas dan 8% komponen partikel. Komponen gas asap rokok merupakan campuran kompleks bahan kimia seperti karbon monoksida, hidrogen sianida, dan nitrogen oksida. Sedangkan komponen partikel rokok terdiri dari tar, nikotin, bezzantracne, benzoferin, fenol, kadmium, indol, karbarzol, dan kresol. Sementara komponen yang paling berbahaya dalam asap rokok adalah tar, nikotin dan karbonmonoksida (Kusuma, 2011). Berdasarkan data The ASEAN Tobacco Control Atlas (Lian & Dorotheo, 2018), dilaporkan bahwa jumlah perokok di ASEAN pada tahun 2017 mencapai 113,301,157 orang dan Indonesia sebagai negara terbesar dengan jumlah perokok 65,188,338 juta, mencapai 57.53 % daritotal perokok di ASEAN. Diiringi jumlah total rokok yang terjual mencapai 316 juta batang rokok. Pada tahun 2016 Indonesia sebagai negara kedua dengan jumlah perokok terbesar setelah China . Merokok merupakan salah satu faktor predisposisi penting sebagai penyebab *candidiasis oral*. Hal ini disebabkan karena hasil pembakaran rokok menyebabkan penebalan pada jaringan mukosa mulut. Sebelum gejala klinis terlihat, iritasi dari asap rokok ini menyerang sel-sel epitel mukosa sehingga aktifitasnya meningkat. Gejala ini baru terlihat bila aktifitas selluler bertambah dan epitel menjadi tebal, terutama tampak pada mukosa bukal (mukosa yang menghadap pipi) dan pada dasar mulut .

Candida albicans adalah fungi oportunistik patogen yang menyebabkan berbagai penyakit pada manusia seperti sariawan, lesi pada kulit, vulvoaginitis dan *gastrointestinal candidiasis*. Mukosa rongga mulut merupakan habitat mikroorganisme yang baik karena rongga mulut memberikan lingkungan ekologi yang mendukung untuk kolonisasi *Candida albicans* (Komariah, 2012). Lesi kandidiasis dapat berkembang di setiap rongga mulut, tetapi lokasi yang paling sering adalah mukosa bukal, lipatan mukosa bukal, orofaring dan lidah. Kandidiasis kronis yang tidak segera dirawat dapat berkembang menjadi kandidiasis leukoplakia yang bersifat pra ganas, dan kemudian mengakibatkan karsinoma sel skuamosa. Selain itu, kandidiasis dapat berkembang menjadi infeksi sistemik melalui aliran getah bening yang menyerang organ vital seperti ginjal, paru- paru, otak dan dinding pembuluh darah yang bersifat fatal. Pada penelitian sebelumnya dilaporkan 20-75% kandidiasis mulut tanpa gejala dan diantaranya gambaran klinis kandidiasis mulut sangat bervariasi dengan gejala mulai dari asimtomatik, gatal, dan sensasi terbakar (Prayudha *et al.*, 2012).

Daun pacar atau dikenal sebagai daun inai atau henna, oleh masyarakat pedesaan tertentu di Indonesia sering digunakan sebagai obat penyembuh luka. Penggunaan daun ini biasanya dengan cara dilumatkan langsung ditempelkan pada luka dan dibalut dengan kain kasa. Daun pacar berkhasiat sebagai astringent, antiinflamasi, antijamur, antibakteri, obat penurun panas, obat penahan darah, peluruh haid dan obat keputihan. Didalam daun pacar kuku terdapat senyawa lawsone (*2-hydroxy-1, 4-naphthoquinone*). Selain itu daun pacar kuku juga mengandung golongan senyawa aktif, seperti alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol, saponin, tannin, dan minyak atsiri (Saadabi, 2007). Permasalahannya adalah sampai saat ini kolonisasi *Candida albicans* pada perokok dengan swab mukosa rongga mulut belum diketahui dengan jelas dan pasti. Mengacu pada uraian latar belakang diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian guna membuktikan keberadaan dan kemampuan *Candida albicans* berkolonisasi pada mukosa perokok, dan untuk mengetahui potensi daya hambat daun pacar kuku (*Lawsonia inermis*) terhadap isolat *Candida albicans*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penangas air, seperangkat alat-alat gelas, pipet tetes, timbangan analitis, corong pisah, corong, kertas saring, cawan petri, bunsen, kawat ose, labu ukur, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, autoklaf, oven, swab steril, sendok tanduk, mikroskop, *object glass*, *deck glass*, timbangan elektrik, thermometer, cawan porselin, *rotary evaporator*, dan jangka sorong.

Sampel swab mukosa perokok, ekstrak daun *Lawsonia inermis*, akuades steril, Potato Dextrose Agar (PDA), Saboraud Dextrose Agar (SDA), *chlroramphenicol*, *ketoconazol*, KOH 10% - 40%, lactophenol blue, NaCl 0.9%, dan DMSO₄.

Pembuatan Media Isolasi dan Identifikasi

Pembuatan Media SDA dengan melarutkan sebanyak 69 g dengan akuades 1000 mL menggunakan *hot plate*. Lalu disterilkan pada autoklaf selama 15 menit pada suhu 121⁰C. Media SDA dibiarkan sampai suhu 45-50⁰C kemudian ditambahkan kloramfenikol dan dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 20 mL dan dibiarkan memadat. Media PDA dibuat dengan melarutkan 39 g dengan aquades 1000 mL menggunakan *hot plate*. Tahap selanjutnya sama dengan pembuatan media SDA.

Isolasi Jamur dari Swab Mukosa Perokok Aktif

Pasien berkumur-kumur dengan air untuk membersihkan mulut, sebelum dilakukan pengambilan sampel pada mukosa rongga mulut. Sampel apusan dari swab mukosa rongga mulut yang terinfeksi jamur diambil menggunakan swab steril kemudian digoreskan pada media SDA, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Setelah koloni tumbuh dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis.

Pembuatan Ekstrak Daun Pacar Kuku dan Pembuatan Konsentrasi

Simplisia herba daun pacar kuku dikeringkan lalu dihaluskan. Sebanyak 800 g serbuk daun pacar kuku dimasukan kedalam botol maserasi. Sampel diekstraksi dengan metoda maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%, didiamkan selama 3-7 x 24 jam. Pisahkan maserat dengan kertas saring. Maserat yang diperoleh dipekatkan pada tekanan rendah menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Dibuat konsentrasi sebesar 15%, 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan menggunakan larutan DMSO.

Pengujian Daya Hambat Ekstrak Daun Pacar Kuku Terhadap Isolat *Candida Albicans*

Dilakukan inokulasi suspensi jamur pada permukaan media, lalu diletakkan sampel ekstrak daun pacar kuku sesuai konsentrasinya dan diatur jaraknya agar daerah pengamatan tidak saling bertumpu. Digunakan pula larutan kontrol positif, dan larutan kontrol negatif. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 3x24 jam dan diukur zona hambat dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong. Kemudian dicatat hasilnya.

HASIL

Data hasil pemeriksaan (tabel 1) menunjukkan bahwa jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media SDA yang diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari dari 10 sampel swab mukosa rongga mulut yang diperiksa terdapat 9 sampel yang ditumbuhi koloni *Candida albicans* dan 1 sampel ditumbuhi *Aspergillus* dan pada kontrol negatif tidak ditumbuhi jamur.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Makroskopik pada Media Pertumbuhan Jamur

No.	Kode Sampel	Jumlah Koloni <i>Candida albicans</i>
1.	A	± 35
2.	B	1
3.	C	11
4.	D	4
5.	E	± 32
6.	F	5
7.	G	3
8.	H	1
9.	I	-
10.	J	2
11.	Kontrol (-)	-

Pada kontrol negatif tidak ditemukan adanya pertumbuhan jamur. Berdasarkan pengamatan makroskopik koloni yang tumbuh memiliki ciri-ciri “*yeast like colony*” berwarna putih kekuning-kuningan, di tengah dan dasarnya warnanya lebih tua, permukaannya halus mengkilat dan sedikit menonjol serta mengeluarkan bau ragi.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Zona Hambat Ekstrak Daun Pacar Kuku pada Isolat *Candida albicans*

No.	Pengujian	Diameter Zona Hambat (mm)						
		Kontrol Positif (Ketokonazol)	Kontrol Negatif (DMSO)	Konsentrasi Ekstrak				
				100%	75%	50%	25%	15%
1.	Pertama	26	0	16,7	14,7	8,3	2,5	0
2.	Kedua	27,3	0	14	14,3	8	2,8	0
3.	Ketiga	24	0	15	13,5	7,8	2,3	0
	Rata-rata	25,77	0	15,2	14,1	8,0	2,5	0

Data hasil pengamatan di atas, menunjukkan diameter zona daya hambat dari kontrol positif ketokonazol sebesar 25,77 mm. Sedangkan pada sampel ekstrak daun pacar kuku, daya hambat tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi 100% dengan diameter sebesar 15,2 mm.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis keberadaan *Candida albicans* sebagai flora normal rongga mulut, yang dapat berubah menjadi patogen jika terjadi perubahan dalam diri *host*. Serta menganalisis potensi daya hambat ekstrak daun pacar kuku terhadap pertumbuhan isolat jamur *Candida albicans*. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah swab mukosa rongga mulut perokok sebanyak 10 sampel menggunakan teknik purposive sampling dengan melakukan pendekatan khusus kepada masyarakat yang berada di lingkungan internal kampus Poltekkes Muhammadiyah Makassar dan di sekitar kampus. Sampel swab mukosa rongga mulut yang telah diambil langsung digoreskan pada media SDA dan selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari dimana dilakukan pengamatan makroskopik setiap harinya kemudian diperiksa secara mikroskopik di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Laboratorium Medis Muhammadiyah Makassar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 9 dari 10 sampel yang disolasi pada media SDA ditumbuhi koloni *Candida albicans* dan setiap hari selama masa inkubasi ukuran koloni semakin membesar. Berdasarkan pengamatan mikroskopik koloni yang tumbuh memiliki ciri-ciri “*yeast like colony*” berwarna putih kekuning-kuningan, di tengah dan dasarnya warnanya lebih tua,

permukaannya halus mengkilat dan sedikit menonjol serta mengeluarkan bau ragi. Perubahan yang terjadi pada pejamu tersebut dapat bersifat lokal maupun sistemik. *Candida albicans* merupakan jamur dengan bentuk ragi dan berkembang biak dengan membentuk tunas. Asap rokok dilaporkan dapat menyebabkan perubahan patologis pada berbagai organ. Pada rongga mulut selain terlibat pada patogenesis karies gigi, juga ancaman infeksi pada mukosa rongga mulut. Dari aspek patogen, asap rokok memicu terjadinya peningkatan aktivitas patogen rongga mulut terhadap *host*. Seperti mempercepat aktivitas pembentukan biofilm, adhesi, invasi, dan infeksi terhadap *host*. Salah satu mikroflora normal pada mulut yang memiliki pengaruh terhadap asap rokok adalah *Candida albicans* (Gani, dkk., 2007).

Rokok adalah salah satu zat adiktif yang bila digunakan secara terus menerus dan berlangsung lama berdampak bahaya bagi kesehatan individu dan masyarakat, karena mengandung berbagai macam komponen zat kimia yang berbahaya dan menghasilkan asap dari pembakaran yang tidak sempurna sehingga mudah diserap oleh jaringan tubuh. Para pasien telah merokok rata-rata dalam jangka waktu lama, dengan jangka waktu antara 20-40 tahun, dengan berbagai macam jenis rokok dan jumlah yang berbeda. Namun dari hasil pengamatan di peroleh bahwa hampir keseluruhan sampel (90%) telah ditumbuhi *Candida albicans* dalam jumlah yang banyak pada mukosa mulutnya. Rata-rata perokok sering mengalami sariawan dan bahkan sensasi terbakar setelah merokok. Rokok memiliki berbagai kandungan yang berbahaya seperti nikotin, tar, karbon monoksida, dan senyawa *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) dari hasil pembakaran yang tidak sempurna (Alanazi, 2015).

Pertumbuhan koloni *Candida albicans* dapat meningkat pada perokok disebabkan tersedianya berbagai kandungan yang dapat mendukung peningkatan pertumbuhan *Candida* seperti senyawa PAH yang berperan sebagai penyedia makanan bagi *Candida* dan adanya lingkungan dengan pH asam dari asap rokok yang menyediakan lingkungan yang baik bagi *Candida* untuk berkolonisasi. Beberapa faktor yang dapat mendukung pertumbuhan *Candida* selain rokok adalah penggunaan gigi tiruan yang mengakibatkan rasa sakit kondisi rongga mulut yang tidak bersih dapat menjadi substrat bagi *Candida*, perubahan jaringan epitel yang disebabkan oleh pengobatan anti kanker, kelainan endokrin dan daya tahan tubuh hospes juga berpengaruh apabila imun tubuh menurun maka *Candida albicans* akan dengan cepat berkembang biak hingga dengan melakukan penetrasi pada jaringan *host* yang dilakukan oleh pseudohifa hingga menimbulkan gejala-gejala kandidiasis oral yang apabila tidak ditangani dapat berubah menjadi kandidiasis kronik yang bersifat fatal. Selain itu kebersihan rongga mulut juga berpengaruh pada pertumbuhan *Candida* serta terkait dengan kebiasaan seperti tidak rutin menggosok gigi dan membersihkan lidah, selain itu kandidiasis oral dapat menjadi kronis apabila dalam diri pejamu telah terinfeksi berbagai macam penyakit.

Penelitian kemudian dilanjutkan dengan menganalisis potensi ekstrak daun pacar kuku terhadap pertumbuhan isolat *Candida albicans* yang telah diisolasi dari perokok. Zona hambat akan diperlihatkan saat kultur jamur diberikan antijamur pada konsentrasi tertentu. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan jamur tersebut terhambat, yang dapat dilihat dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram/paper discs pada media yang telah diinokulasikan isolat jamur *Candida albicans*. Pembuatan ekstrak daun pacar kuku dilakukan dengan metode maserasi dengan perendaman etanol 96%, proses ini merupakan penarikan senyawa aktif hasil metabolit sekunder oleh zat pelarut etanol. Ekstrak dibuat dalam konsentrasi 15%, 25%, 50%, 75%, 100%, dengan pelarut DMSO. Pelarut ini dapat melarutkan senyawa baik polar maupun nonpolar, dan tidak mempengaruhi pertumbuhan biakan jamur. Pada penelitian ini diketahui bahwa ekstrak daun pacar kuku mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida* dengan rata-rata zona hambat tertinggi adalah 15.2 mm pada konsentrasi 100%. Terbentuknya zona hambat ini disebabkan oleh adanya senyawa aktif yang dikandung oleh ekstrak daun pacar kuku yang berfungsi sebagai antijamur, sehingga pertumbuhan isolat *Candida*

dapat dihambat. Kandungan yang terdapat pada daun pacar kuku diantaranya adalah flavonoid, alkaloid, quinon, kumarin, triterpenoid, dan tanin. Flavonoid memiliki mekanisme membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga akan merusak membran sel jamur. Selain itu, alkaloid diketahui merupakan senyawa yang dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga menyebabkan kematian sel. Senyawa tanin juga terkandung dalam daun pacar kuku yang memiliki aktivitas menggandakan kompleks hidrofobik dengan protein, enzim dan protein transport, menginaktivasi adhesion, sehingga mengganggu pertumbuhan mikroorganisme. Quinon membentuk kompleks irreversibel dengan asam amino nukleofilik pada protein sehingga protein kehilangan fungsinya serta memiliki kemampuan menghasilkan radikal bebas yang stabil. Selain itu, pacar kuku memiliki efek farmakologis ampuh lainnya sebagai anti tumor dan anti tuberkulosis, anti parasit (Okpekon *et al.*, 2004), dan anti-tripanosomal (Atawodi *et al.*, 2002).

Kemampuan zat antifungi dalam menghambat pertumbuhan jamur, dipengaruhi oleh beberapa faktor, yakni konsentrasi anti jamur, sifat, jenis, kuantitas dan umur jamur, serta sifat kimia dan fisik dari media pertumbuhan. Pada kontrol positif, ketokonazol, menunjukkan zona hambat terbentuk sangat tinggi yakni sebesar 25.77 mm. Hal ini didukung oleh kemampuannya dalam menghambat terbentuknya membran sitoplasma dan mempengaruhi biosintesis ergosterol dalam sel jamur. DMSO merupakan kontrol (-) yang tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat, hal ini menunjukkan bahwa pelarut ini tidak mengandung senyawa yang mampu melakukan aktivitas biologi, karena penggunaan kontrol negatif ini bertujuan untuk memastikan bahwa zona hambat yang terbentuk benar-benar berasal dari senyawa aktif ekstrak, bukan pengaruh pelarut.

Interpretasi zona hambat pada pertumbuhan mikroba khususnya jamur, mengacu pada standar umum yang di keluarkan Departemen Kesehatan, disebutkan bahwa mikroba dapat dinyatakan peka terhadap senyawa aktif yang bersifat antimikroba dari suatu tanaman apabila memiliki ukuran diameter zona hambat sebesar 12-24 mm. Ekstrak etanol daun pacar kuku dapat menghambat pertumbuhan *Candida* pada konsentrasi 100% sebesar 15.2 mm dan konsentrasi 75% sebesar 14.1 mm, hal ini menunjukkan ekstrak daun pacar kuku memiliki potensi daya hambat yang kuat, sedangkan pada konsentrasi 50% ke bawah bersifat tidak sensitif karena hanya berkisar 8 mm ke bawah. Mekanisme yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan mikroba dalam hal ini jamur, karena terjadinya kerusakan membran sel oleh zat aktif antijamur. Kerusakan membran sel akan mengganggu keutuhan komponen interseluler dan menyebabkan respirasi tidak terjadi. Pada akhirnya akan menyebabkan kekurangan energi untuk transport aktif zat hara, sehingga pertumbuhan jamur terhambat. Kemampuan daya hambat yang ditunjukkan dari ekstrak daun pacar kuku disebabkan oleh kandungan senyawa aktif yang dimilikinya berupa hasil metabolit sekunder berupa senyawa lawsone. Selain itu, daun pacar kuku juga mengandung golongan senyawa aktif seperti alkaloid, glikosida, flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan minyak atsiri. Sehingga daun pacar kuku dikenal sebagai salah satu tanaman obat berkhasiat sebagai astringent, antiinflamasi, antijamur, antibakteri, obat penurun panas, obat penahan darah, peluruh haid dan obat keputihan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada perokok mencapai 90% dari jumlah sampel. Ekstrak daun pacar kuku berpotensi sebagai herbal yang mampu menghambat pertumbuhan *Candida* secara optimal pada konsentrasi 75% dan 100% sebesar 14.1 mm dan 15.2 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Alanazi, H., 2015. *Effect of Cigarette Smoke on Candida albicans Growth and its interaction with Human Gingival Fibroblast*. 1(25).
- Atawodi, S. E., Ameh, D. A., Ibrahim, S., Andrew, J. N., Nzelibe, H. C., Onyike, E. O., Anigo, K. M., Abu, E. A., James, D. B., Njoku, G. C, and Sallau, A. B., 2002. *Indigenous knowledge system for treatment of trypanosomiasis in Kaduna state of Nigeria*. J Ethnopharmacol. 79(2):279-82.
- Gani, B. A., Algassani, A.Q., Mubarak, Z., Bachtiar, E. W., dan Bachtiar, B. M., 2007. *Potensi Cigarette Smoke Condensate Terhadap Peningkatan Pembentukan Biofilm Candida albicans Isolat ATCC 10261*. Journal of Syiah Kuala Dentistry Society. 2(1): 33-39.
- Kusuma, A. R. P., 2011. *Pengaruh Merokok Terhadap Kesehatan Gigi dan Rongga Mulut*. Majalah Ilmiah Sultan Agung. 49(124): 1-8.
- Komariah, R. R. S., 2012. *Kolonisasi Candida Dalam Rongga Mulut*. Medical Journal of the Christian University of Indonesia. 27(1): 39-47.
- Lian, T. Y., and Dorotheo, U., 2018. *The Tobacco Control Atlas: ASEAN Region. Fourth Ed*. Southeast Asia Tobacco Control Alliance (SEATCA). Thailand.
- Okpekon, T., Yolou, S., Gleye, C., Roblot, F., Loiseau, P., Bories, C., Grellier, P., Frappier, F., Laurens, A., and Hocquemiller, R., 2004. *Antiparasitic Activities of Medicinal Plants Used in Ivory Coast*. J Ethnopharmacol. 90(1): 91-97.
- Parveen, S. D., 2013. *An approach to etiology, diagnosis and management of different types of candidiasis*. Department of Microbiology, Kurukshetra University, Haryana, India.
- Pérez-Gracia, M. T., Haya-Fernández, C. M., Medina-Cebrian, B., and Suay-García, B., 2014. *Chronic Hyperplastic Candidiasis of the Oral Mucosa: Case Report*. Journal of Clinical Studies & Medical Case Report. 1: 1-3.
- Prayudha, S. A. E., Chrismawaty, B. E., Agustina, D & Subagyo, G. 2012. *Kandidiasi Mulut Sebagai Indikator Penyakit Sistemik*. KedGi. 19 (2): 162.
- Saadabi, M. A. A., 2007. *Evaluation of Lawsonia inermis. (Sudanese Henna) Leaf Extracts as an Antimicrobial Agent*. Research Journal of Biological Sciences.
- Yenepoya Dental College, 2012. *Oral Candidiasis – A Review Prasanna Kumar Rao Reader Department of Oral Medicine and Radiology*. Yenepoya University, Deralakatte, Nithyanandanagar Post, Mangalore, Karnataka, India.