

Antifungal effectiveness of soursop (*Annonamuricata Linn*) leaves extract againsts *Candida albicans* on heat cured acrylic

Efektivitas antifungi ekstrak daun sirsak (*Annonamuricata Linn*) terhadap *Candida albicans* pada akrilik polimerisasi panas

Ria Koesoemawati

Department of Prosthodontic

Faculty Dentistry, University of Mahasaraswati Denpasar

Denpasar, Indonesia

Corresponding Author: **Ria Koesoemawati**, e-mail: ria63kus@unmas.ac.id

ABSTRACT

Objective: The use of removable dentures can cause chronic inflammation, namely denture stomatitis, caused by *Candida albicans*; with a prevalence of 15-70%. Soursop (*Annonamuricata Linn*) leaf extract contains alkaloids, tannin, flavonoids, and saponins that act as antifungals. This study is intended to evaluate whether soursop leaf extract solution can effectively reduce the number of *C.albicans* colonies in heat polymerized acrylic resins. **Method:** With true experimental pre-post test with control group design, 25 resin plates were divided into 5 groups, 3 groups were tested with soursop leaf extract (10%, 15% and 25%), while Fittydent® and aquadest were the control groups. Samples are contaminated with *C.albicans* suspension and incubated; calculated before immersion 8 hours, then put in Saboroud's brooth and recalculated. **Result:** Wilcoxon test showed significant differences in all groups, except the aquadest group. The Mann-Whitney test compared a decrease in the number of *C.albicans* colonies between groups, showed significant differences between treatment groups, except between the extract group of 25% and fittydent control®. **Conclusion:** Soursop leaf extract solution lowers the number of *C.albicans* colonies in heat polymerization acrylic with the most effective concentration of 25%.

Keywords: acrylic hot polymerization, *Candida albicans*, soursop leaf extract

ABSTRAK

Objektif: Pemakaian gigi tiruan lepasan dapat menyebabkan peradangan kronis, yaitu *denture stomatitis*, yang disebabkan oleh *Candida albicans*; dengan prevalensi sebesar 15-70%. Ekstrak daun sirsak (*Annonamuricata Linn*) mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin yang berperan sebagai antijamur. Penelitian ini ditujukan untuk mengevaluasi apakah larutan ekstrak daun sirsak secara efektif dapat menurunkan jumlah koloni *C.albicans* pada resin akrilik polimerisasi panas. **Metode:** Dengan desain *true experimental pre-post test with control group*, 25 plat resin dibagi menjadi 5 kelompok, 3 kelompok diuji dengan ekstrak daun sirsak (10%, 15% dan 25%), sedangkan Fittydent® dan aquades digunakan pada kelompok kontrol. Sampel dikontaminasi dengan suspensi *C.albicans* dan diinkubasi; dihitung sebelum perendaman 8 jam, kemudian dimasukkan ke dalam *Saboroud's brooth* dan dihitung kembali. **Hasil:** Uji Wilcoxon menunjukkan perbedaan yang signifikan pada semua kelompok, kecuali kelompok aquades. Uji Mann-Whitney membandingkan penurunan jumlah koloni *C.albicans* antar kelompok, menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan, kecuali antar kelompok ekstrak 25% dan kontrol Fittydent®. **Sim-pulan:** Larutan ekstrak daun sirsak menurunkan jumlah koloni *C.albicans* pada akrilik polimerisasi panas dengan konsentrasi paling efektif 25%.

Kata kunci: akrilik polimerisasi panas, *Candida albicans*, ekstrak daun sirsak

Received: 20 June 2021

Accepted: 1 July 2021

Published: 1 August 2021

PENDAHULUAN

Kehilangan gigi, sebagian maupun seluruh, seharusnya diganti dengan gigi tiruan (GT). Kehilangan gigi yang tidak diganti dengan GT akan berdampak pada terganggunya keharmonisan fungsi dalam rongga mulut karena GT merupakan peranti pengganti gigi alami beserta jaringan pendukungnya yang hilang.

Penggunaan GT lepasan dapat menyebabkan inflamasi kronis pada mukosa mulut, khususnya daerah palatal dan mukosa gingiva yang berkонтак langsung dengan basis GT. Inflamasi dapat disebabkan oleh bakteri dan *Candida albicans*, yang dikenal dengan *denture stomatitis*,¹ yang prevalensinya dilaporkan 15-70%.² Bahan dasar basis GT lepasan 98% berupa resin akrilik, dikenal sejak tahun 1946,³ merupakan suatu polimer

basis GT lepasan, gigi artifisial, *reline* dan *rebase* prosesis, bahan prostesis maksilosial serta basis piranti ortodontik lepasan.⁴

Resin akrilik *polymethyl methacrylate* polimerisasi panas merupakan bahan basis yang banyak digunakan karena kelebihannya; estetik baik karena warna menyerupai gingiva, translusen, harga relatif murah, penggeraan mudah, tidak larut dan tidak aktif dalam cairan mulut, mudah direparasi, perubahan dimensi kecil, tahan terhadap daya pertumbuhan bakteri, dan memiliki massa yang ringan.⁵ Namun resin akrilik polimersasi panas juga memiliki kekurangan dapat menyerap cairan karena sifat porositas dan kekasaran permukaannya. Faktor ini yang dapat memicu pertumbuhan mikroba sebagai penyebab *denture stomatitis*.⁶ Basis GT dibagi

menjadi dua, yaitu permukaan dipoles yang menghadap ke lidah dan tidak dipoles yang menghadap ke mukosa mulut. Bagian yang menghadap mukosa tidak dipoles sehingga mengurangi pembersihan oleh saliva, dan mengakibatkan sisa makanan dan organisme mikro menumpuk.⁷

C.albicans disebut sebagai agen infeksius opportunistik yang dapat berubah menjadi patogen karena perubahan kondisi di rongga mulut, antara lain pemakaian GT. Berdasarkan suatu penelitian, *C.albicans* dapat diisolasi sebanyak 86% dari penderita *denture stomatitis*, bila dibandingkan dengan *S.aureus* 84%, dan *S.mutans* 16%. Hal ini menunjukkan bahwa *C.albicans* adalah organisme mikro utama pada *denture stomatitis*.⁸ Selain itu *C.albicans* lebih sering ditemukan pada plak GT dibandingkan pada plak gigi. Plak GT dapat definisikan sebagai biofilm yang terbentuk pada GT dan terdapat organisme mikro.⁹ Jika GT tidak dibersihkan dapat menyebabkan akumulasi plak karena permukaan resin akrilik kasar, selanjutnya terjadi adesi antara *C.albicans* dengan GT.¹⁰ Perendaman GT dalam larutan pembersih GT atau desinfektan dapat mencegah perlekatan *C.albicans*.

Larutan pembersih GT dibuat untuk secara efektif menghilangkan bahan organik dan anorganik dari permukaan GT, memiliki sifat bakterisida, fungisida serta kompatibel dengan semua bahan basis GT. Sedangkan keuntungannya mudah digunakan dan telah teruji efektif mengurangi pembentukan biofilm secara invitro.¹¹ Beberapa kelebihan larutan pembersih GT, dapat mencapai seluruh permukaan GT sehingga lebih efektif, kerusakan karena salah pembersihan dapat diminimalisasi, efektif menghilangkan mikroba, mudah digunakan bagi orang tua dan yang memiliki keterbatasan.¹² Sodium lauryl sulfat adalah kandungan Fittydent®, merupakan surfaktan atau deterjen berguna sebagai pembersih, pelarut yang baik dan iritasi rendah, efektif menghilangkan stain. Sodium perborat merupakan sumber oksigen aktif sehingga ketika dilarutkan dalam air akan menghasilkan gelembung yang memungkinkan pembersihan mekanis. Sodium bikarbonat merupakan larutan penyanga dapat membantu menghilangkan noda serta digunakan sebagai pemutih.¹³ Sebagai antiseprik mencegah proliferasi organisme mikro pada GT.¹⁴ Potassium monosulfat berfungsi sebagai desinfektan, dapat mengurangi kontaminasi patogen yaitu perlekatan dari *C.albicans* serta tidak menyebabkan abrasi.¹⁵ Sebaliknya efek perendaman secara terus-menerus dalam larutan pembersih dapat menyebabkan perubahan warna resin akrilik, menurunkan kekerasan dan kekasaran permukaan basis GT.¹⁶

Desinfektan dari bahan herbal saat ini lebih dikembangkan karena dapat meminimalisasi efek samping, sehingga lebih aman digunakan dalam jangka

waktu lama. Daun sirsak dapat digunakan sebagai desinfektan alternatif untuk GTL. Kandungan kimia yang terdapat dalam daun sirsak adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, antrakuinon, terpenoid, steroid, glikosida.¹⁷ Selain itu daun sirsak juga mengandung mineral seperti magnesium, kalsium, potassium, sodium, fosfor dan nitrogen. Kandungan vitamin dalam daun sirsak adalah riboflavin, thiamin, niacin dan asam askorbat. Daun sirsak juga memiliki kandungan nutrisi seperti protein, minyak, karbohidrat dan serat.¹⁸

Beberapa hasil penelitian dengan herbal sebagai antifungi yaitu oleh Ornay dkk, menggunakan ekstrak daun kemangi memiliki senyawa aktif yang sama yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, tanin terbukti dapat menghambat *C.albicans*.¹⁹ Penelitian lain dilaporkan oleh Koesoemawati dkk, bahwa larutan ekstrak daun belimbing wuluh dengan kandungan flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid terbukti dapat menurunkan jumlah koloni *C.albicans* pada plat resin akrilik polimerisasi panas.²⁰

Dari paparan di atas, perludiuji secara in vitro ekstrak daun sirsak sebagai antifungi terhadap koloni *C.albicans* pada resin akrilik polimerisasi panas dan pada konsentrasi berapa yang paling efektif. Hasilnya diharapkan dapat berguna bagi masyarakat sebagai desinfektan herbal GT resin akrilik polimerisasi panas yang lebih aman dengan efek samping minimal.

METODE

Penelitian ini merupakan *in vitro true experimental pre-posttest with control group design*. Sampel sebanyak 25 plat resin akrilik (Vertex Basiq 20) ukuran 10x10x2 mm tidak dipoles, direndam dalam akuades selama 48 jam untuk mengurangi sisa monomer, kemudian disterilkan menggunakan otoklaf 121°C selama 18 menit. Plat selanjutnya direndam dalam saliva steril selama 1 jam, kemudian dibilas dengan PBS 2 kali. Plat resin akrilik dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi suspensi *C.albicans* (stok Laboratorium Mikrobiologi Unair Surabaya, diproses hingga diperoleh sesuai standar larutan 10⁸ CFU/mL McFarland), kemudian diinkubasi lagi selama 24 jam pada suhu 37°C. Jumlah koloni yang dihitung adalah jumlah yang hanya melekat pada plat resin akrilik.

Plat resin akrilik dibagi 5; tiga kelompok perendaman dalam ekstrak daun sirsak, yaitu kelompok I 10%, kelompok II 15% dan kelompok III 25%. Kelompok IV perendaman dalam Fittydent® sebagai kontrol positif dan kelompok V dalam akuades sebagai kontrol negatif. Setelah direndam selama 8 jam. Selanjutnya plat resin akrilik dibilas dengan PBS 2 kali, kemudian dimasukkan ke dalam 10 mL *Sabouraud's dextrose broth*, divibrasi dengan vortex pada semua tabung reaksi selama 30 detik untuk melepaskan *C.albicans* yang

Tabel 1 Hasil uji pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap penurunan jumlah koloni *C.albicans*

Kelompok	n	Rerata	SB	Z	p
P1 (10%)	5	41,00	1,58	-2,023	0,043
P2 (15%)	5	15,60	2,07	-2,032	0,042
P3 (25%)	5	0,00	0,00	-2,023	0,043
K1 (<i>Fittydent®</i>)	5	0,00	0,00	-2,032	0,042
K2 (aquades)	5	113,80	5,49	-0,944	0,345

melekat pada plat resin akrilik. Sebanyak 0,1 mL suspensi *C.albicans* ditanam dalam *Sabouraud's dextrose broth*, dilakukan *spreading* diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Terakhir jumlah koloni *C.albicans* dihitung dalam CFU/mL.

Data dianalisis dengan uji *Wilcoxon* untuk perbandingan *pre* dan *post* pada masing-masing perlakuan. Uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL

Berdasarkan uji *Kolmogorov-Smirnov* diketahui hasil tidak terdistribusi normal, sehingga dilanjutkan dengan non parametrik. Uji *Wilcoxon* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan untuk dua sampel yang berpasangan, yaitu data pada sampel kedua merupakan perubahan atau perbedaan dari data sampel pertama.

Pada semua kelompok plat resin akrilik polimerisasi panas yang direndam pada ekstrak daun sirsak koncentrasi 10% (P1), 15% (P2) dan 25% (P3) nilai *p* lebih kecil dari 0,05 sehingga terdapat pengaruh yang signifikan terhadap perlakuan. Pada perendaman dengan kontrol positif (K1) juga nilai *p* lebih kecil dari 0,05, sedangkan kontrol negatif (K2) nilai *p* lebih besar dari 0,05 yang berarti tidak terdapat pengaruh yang signifikan terhadap perlakuan.

Uji *Kruskal-Wallis* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan penurunan jumlah koloni *C.albicans* pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.



Gambar 1 Hasil perhitungan jumlah koloni *C.albicans*; A sebelum dan B sesudah dilakukan perendaman larutan ekstrak daun sirsak.

Tabel 2 Hasil uji perbedaan penurunan jumlah *C.albicans* setelah direndam antar kelompok

Kelompok	n	Rerata	P
P1 (10%)	5	8,00	
P2 (15%)	5	13,00	
P3 (25%)	5	20,50	0,000
K1 (<i>Fittydent®</i>)	5	20,50	
K2 (aquades)	5	3,00	

Uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai *p* lebih kecil dari 0,05 yang berarti antar kelompok perlakuan serta kelompok kontrol memiliki perbedaan yang signifikan. Uji *Mann-Whitney* dilakukan untuk mengetahui nilai signifikan dari perbandingan penurunan jumlah koloni *C.albicans* antar dua kelompok, baik antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada plat resin akrilik polimerisasi panas setelah direndam dalam ekstrak daun sirsak. Hampir semua kelompok perbandingan baik antar kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol memiliki nilai *p* lebih kecil dari 0,05 yang berarti ada perbedaan signifikan pada tiap kelompok perlakuan, kecuali pada perbandingan ekstrak daun sirsak 25% (P3) dengan kelompok kontrol positif (K1) memiliki nilai *p* lebih besar dari 0,05.

PEMBAHASAN

C.albicans merupakan organisme mikro utama penyebab *denture stomatitis*.⁸ Perendaman GT lepasan dalam larutan pembersih gigi atau dalam larutan desinfektan herbal pada malam hari merupakan pencegahan terjadinya *denture stomatitis*. Hal ini ditunjang dari beberapa hasil studi, terbukti dapat menurunkan jumlah *C.albicans*. Pemakaian larutan pembersih gigi tiruan *Fittydent®* dalam jangka panjang dapat menyebabkan diskolorasi, menurunkan kekerasan dan kekasaran platresin akrilik GT.¹⁶ Bahan herbal alami daun sirsak, berdasarkan hasil uji fitokimia mengandung alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin, memiliki efek antijamur dan dapat menghambat pertumbuhan *C.albicans*.¹⁷

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perendaman plat resin akrilik polimerisasi panas dalam larutan ekstrak daun sirsak selama 8 jam dengan koncentrasi 10%, 15% dan 25% terbukti signifikan dapat menurunkan jumlah koloni *C.albicans*. Demikian juga larutan *Fittydent®*, terbukti menunjukkan penurunan jumlah koloni *C.albicans* secara signifikan. Sedangkan aquades, menunjukkan tidak dapat menurunkan jumlah koloni secara signifikan.

Dari tabel 1 tampak bahwa semakin tinggi koncentrasi ekstrak daun sirsak, semakin rendah jumlah koloni *C.albicans* pada plat resin akrilik polimerisasi panas. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu zat antiorganisme mikro akan semakin cepat pula sel organisme mikro mati atau terhambat pertumbuhannya.²¹ Selain itu juga sesuai dengan penelitian Ornay dkk,¹⁹

Tabel 3 Hasil uji perbandingan penurunan jumlah koloni *C.albicans* setelah direndam dalam ekstrak daun sirsak antar dua kelompok

Kelompok	P1 (10%)	P2 (15%)	P3 (25%)	K1 (<i>Fittydent®</i>)	K2 (<i>aquadest</i>)
P1 (10%)	0,009	0,005		0,005	0,009
P2 (15%)		0,005		0,005	0,009
P3 (25%)			1,000		0,005
K1(<i>Fittydent®</i>)					0,005

pada ekstrak daun kemangi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100% didapatkan bahwa konsentrasi 25%, 50%, 100% tidak ditemukan *C.albicans* dan pada rerata konsentrasi 6,25%, 12,5% yaitu 18 dan 6 CFU/mL. Semakin tinggi konsentrasi, makintinggi pula komponen bioaktif antimikroba sehingga kemampuan daya bunuh pertumbuhan mikroba juga semakin tinggi.²²

Hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak daun sirsak (10%, 15%, 25%) yang digunakan sebagai perendam plat resin akrilik polimerisasi panas dapat menurunkan jumlah koloni *C.albicans*; ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki kemampuan menurunkan jumlah koloni *C.albicans*. Hal ini disebabkan oleh karena daun sirsak memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid yang merupakan golongan fenol terbesar yang berasal dari tumbuhan yang memiliki sifat antimikroba terhadap jamur.¹⁹ Flavonoid yang ada pada daun sirsak adalah flavon dan flavonol. Mekanisme antimikroba flavonoid terhadap *C.albicans* yaitu dengan cara denaturasi protein sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Denaturasi protein menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga mengubah komposisi komponen protein. Fungsi membran sel yang terganggu dapat menyebabkan meningkatnya permeabilitas sel, sehingga mengakibatkan kerusakan sel *C.albicans*. yang menyebabkan kematian sel *C.albicans*.²³

Selain flavonoid, daun sirsak juga memiliki kandungan tanin yang merupakan senyawa kompleks berupa polifenol yang biasanya ditemukan pada tumbuhan, makanan dan minuman. Mekanisme tanin sebagai antijamur yaitu dengan menghambat enzim ekstrasel dan merusak substrat yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel *C.albicans*.²⁴

Kandungan lain dalam daun sirsak, yaitu saponin dan alkaloid. Saponin merupakan senyawa glikosida yang ada pada tumbuhan dan dapat dibedakan atas tiga kelompok yaitu triterpenoid, steroid, atau glikosida steroid. Saponin berkontribusi sebagai antijamur dengan mekanisme mengurangi tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel *C.albicans*, sehingga permeabilitasnya meningkat. Permeabilitas yang meningkat mengakibatkan cairan intrasel yang lebih pekat tersedot keluar sel sehingga *C.albicans* mengalami kematian.²⁵ Alkaloid merupakan senyawa basa nitrogen yang biasanya berasal dari tumbuhan dan hewan. Alkaloid hanya sedikit larut dalam air namun larut pada etanol,

benzene eter. Mekanisme sebagai antimikroba yaitu dengan menghambat esterase serta polimerase DNA dan RNA dari *C.albicans*, dan menghambat respirasi *C.albicans*.²⁶

Hal tersebut di atas juga sesuai hasil penelitian Ornay dkk, yang menggunakan ekstrak daun kemangi yang memiliki senyawa aktif yang sama yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, tanin yang terbukti pada konsentrasi 12,5% dan 25% dapat menghambat dan membunuh *C.albicans*.¹⁹ Penelitian oleh Koesoemawati dkk, dilaporkan bahwa larutan ekstrak daun belimbing wuluh dengan kandungan flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid terbukti menurunkan jumlah koloni *C.albicans* pada konsentrasi 6,25% dan 10% pada plat resin akrilik polimerisasi panas.²⁰ Demikian pula penelitian yang dilakukan oleh Yuniard dkk dengan ekstrak kulit batang ulin terbukti dapat menurunkan jumlah koloni *C.albicans* pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Berdasarkan uji fitokima ekstrak kulit batang ulin ini mengandung tanin, flavonoid, fenol, alkaloid, saponin dan terpenoid.²⁷

Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak 25% memiliki perbedaan yang signifikan dengan ekstrak daun sirsak konsentrasi 10% dan 15% terhadap daya bunuh sel *C.albicans*. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Pelczary yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu zat antiorganisme mikro akan semakin cepat pula sel organisme mikro mati atau terhambat pertumbuhannya.²¹ Perendaman plat resin akrilik polimerisasi panas dengan ekstrak daun sirsak pada konsentrasi 10% dan 15% tidak seefektif dibanding *Fittydent®*, karena kandungan sodium perborate dari *Fittydent®* sebagai antisepik yang mencegah proliferasi organisme mikro pada GT lepasan. Kandungan lainnya berupa *sodium lauryl sulfate* berfungsi sebagai surfaktan dan *sodium bicarbonate* berfungsi sebagai disinfektan sehingga dapat mengurangi perlekatan dari *C.albicans*.¹⁵ Namun pada perendaman dengan ekstrak daun sirsak konsentrasi 25% tidak terdapat perbedaan bermakna atau memiliki efektivitas yang sama dengan *Fittydent®* terhadap kemampuan daya bunuh terhadap *C.albicans*. Hal ini karena konsentrasi ekstrak daun sirsak 25% yang cukup tinggi dan waktu perendaman cukup lama yaitu delapan jam, yang diasumsikan sama dengan perendaman GT lepasan semalam. Ini sesuai dengan pendapat Jawetz bahwa daya kerja antimikroba tergantung atas konsentrasi,

waktu dan suhu.²³ Dari penelitian ini terbukti bahwa ekstrak daun sirsak 25% dan pembersih gigi Fittydent® memiliki potensi yang sama terhadap daya bunuh *C. albicans*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak sebagai desinfektan dapat dijadikan pengganti larutan pembersih GT yang lebih aman, yang memiliki efek samping minimal.

Berdasarkan hasil kajian di atas, disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak 10%, 15%, 25% sebagai anti-fungi efektif menurunkan jumlah koloni *C.albicans* pada akrilik polimerisasi panas dengan konsentrasi 25% paling efektif. Perlu diuji kekuatan transversa GT akrilik polimerisasi panas akibat perendaman berulang kali dengan waktu lama dari larutan ekstrak daun sirsak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Baskaran K. Denture stomatitis. Int J Sci Res 2017; 6 (5): 56-61.
2. Gendreau L, Loewy Z. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. J Prosthodont 2011; 20: 251-60.
3. Powers JM, Sakaguchi RL. Craig's restorative dental materials, 12th ed. Missouri: Mosby an imprint of Elsevier; 2006.p. 58-9
4. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Philip's science of dental materials, 12th ed. Missouri: Elsevier Saunders; 2013. p.107
5. McCabe JF, Walls AWG. Applied dental materials. 9th ed. Munksgaard: Blackwell Pub; 2008. p.110-23
6. Schmalz G, Bindslev DA. Biocompatibility of dental materials. Berlin: Springer; 2009. p.261-2
7. Cakan U, Kara O, Kara H. Effects of various denture cleansers on surface roughness of hard permanent reline resins. Dent Mater J 2015; 3 (2): 246-51.
8. Monroy TB, Victor MM, Fernando FM, Beatriz AB, Guillermo Q. Candida albicans, Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans colonization in patients wearing dental prosthesis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2005;10: 27-39
9. Serefko AD, Poleszak EJ, Malm A. Candida albicans denture biofilm and its clinical significance. Polish J Microbiol 2012; 61(3): 161-7.
10. Salerno C, Pascale M, Cantaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, et al. Candida-associated denture stomatitis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2011; 16 (2): 139-43.
11. Gajwani JS, Magdum D, Karagir A, Pharane P. Denture cleansers: a review. IOSR J Dent Med Sci 2015; 14 (2): 94-6
12. Yadav R, Yadav V, Garg S. Effectiveness of different denture cleansing methods on removal of biofilms formed in vivo. J Cranio-Maxillary Dis 2013; 2 (1): 22-7
13. Maart R, Grobler SR, Kruijsse HW. The whitening effect of four different commercial denture cleansers on stained acrylic resin. J South African Dent Assoc 2016; 71 (3): 106-11
14. Pisani MX, Leite, Vanessa MF, Badaró MM. Soft denture liners and sodium perborate: sorption, solubility and color change. Braz J Oral Sci 2015; 14 (3): 219-23.
15. Cervantes FA, deSousa G, Paradella TC. Effect of sodium bicarbonate on Candida albicans adherence to thermally activated acrylic resin. Braz Oral Res 2009; 23 (4): 381-5.
16. Porwal A, Khandelwal M, Punia V, Sharma V. Effect of denture cleanser on color stability, surface roughness and hardness of different denture base resin. J Indian Prosthodont Soc 2016; 17 (1): 61-7
17. Ojezele OJ, Ojezele MO, Adeosum AM. Comparative phytochemistry and antioxidant activities of water and ethanol extract of annona muricata linn leaf, seed and fruit. Adv Biol Res 2016; 10 (4): 230-5
18. Uchegbu RI, Ukpai KU, Iwu IC. Evaluation of the antimicrobial activity and chemical composition of the leaf extract of Annona muricata linn (soursop) grown in eastern Nigeria. Arch Current Res Int 2017; 7 (1): 1-7
19. Ornay AKD, Prehananto H, Dewi ASS. Daya hambat pertumbuhan Candida albicans dan daya bunuh Candida albicans ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L). J Wiyata 2017; 4 (1): 78-83
20. Koesoemawati R, Poernomo H, Hervina. Effectiveness of immersion acrylic resin in extracts of *Averrhoa blimbi* L leaf to oral microorganism. Proceeding of the 14th FDI-IDC Continuing Dental Education Programme. Conference; 2018. Sept. 21-22 ; Menado Indonesia. p.249-54
21. Pelczar MJ, Chan ECS. Dasar-dasar mikrobiologi. Alih Bahasa: Hadjioetomo RS. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 1988. p.456-8
22. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Jawetz and Adelberg's medical microbiology, 24th ed. New York: Mc Graw Hill Comp; 2007. p.218
23. Jawetz EM. Review of medical microbiology. 16th ed. San Francisco: Longo Medical Pub.; 1996. p.143-8, 297-9
24. Ishida K, Mello, Joao CP. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 942-9.
25. Septianoor MH, Carabelli AM, Apriasari ML. Uji efektivitas antifungi ekstrak metanol batang pisang Mauli (*Musa sp*) terhadap *Candida albicans*. Jurnal PDGI 2013; 62 (1): 7-10.
26. Aniszewki, Tadeusz. Alkaloid-secrets of life. 1st ed. Amsterdam: Elsevier; 2007.
27. Yuniar AF, Firdaus IWAK, Arifin R. Pengaruh ekstrak kulit batang ulin (*Eusideroxylon zwageri*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada gigi gigi resin akrilik. Dentino J Kedokteran Gigi 2021; 6 (1): 31-6