

P CUMCJ 'RWDNKMUCUK

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) TERHADAP
JAMUR *Candida albicans***



Disusun oleh

MUHAMMAD DALTON FISABILILLAH

20100340004

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA**

2019

HALAMAN PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) TERHADAP
JAMUR *Candida albicans***

Disusun oleh:

MUHAMMAD DALTON FISABILILLA

20100340004

Telah disetujui dan diseminarkan pada tanggal 16 April 2019

Dosen Pembimbing

Dosen Penguji



drg. Sartika Puspita, MD.Sc.

NIK : 19791028200910 173 109



Dr. drg. Erlina Sih Mahanani, M.Kes.

NIK : 19701014200410 111 003

Mengetahui

Ketua Program Studi Kedokteran Gigi

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta



Dr. drg. Erlina Sih Mahanani, M.Kes.

NIK : 19701014200410 111 003

The Effect of Soursop Leaf Extract (Annona muricata) On Candida albicans

Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Jamur *Candida albicans*

Muhammad Dalton Fisabilillah¹, Sartika Puspita²

¹Mahasiswa Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

²Dosen Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Jalan Brawijaya, Kasihan, Bantul, Yogyakarta 55183

Email:

ABSTRACT

Oral candidiasis is easy to infect toddlers. *Candida albicans* is usually in the mouth, tongue, and lips. This fungi is an infectious disease caused by the level of hygiene and human habits. Fruit, seeds, leaves, bark, and roots of soursop plants have been used as traditional medicine. Soursop leaf (*Annona muricata*) is one of the blessings of Allah SWT. The benefits of flavonoids in the human body are antioxidants that are very good for cancer prevention, protecting cell structures, increasing the effectiveness of vitamin C, anti-inflammation, preventing bone loss, and antibiotics. This study aims to examine the effect of soursop leaf extract (*Annona muricata*) on the growth of *Candida albicans* fungi. Ethanol extract of soursop leaf was obtained by maceration method using 70% ethanol solvent. Antifungal activity testing using diffusion method with the concentration of soursop leaf extract 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. The experimental results of antifungal activity of soursop leaf extract (*Annona muricata*) on *Candida albicans* showed that there were no clear zones at each concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. The results of data analysis in this study indicate that the ethanol extract of soursop leaf cannot inhibit the growth of fungi *Candida albicans*. There are several causes of the soursop leaf extract (*Annona muricata*) cannot inhibit the growth of fungi *Candida albicans*. Extract of soursop leaf (*Annona muricata*) using ethanol 70% less dissolves secondary metabolites that affect to the growth of *Candida albicans*. The location of soursop leaf samples with different environmental conditions can also have an impact on the quality of soursop leaf. The antifungal content in soursop leaf extract in the Pundong, Bantul area is not strong enough to inhibit the growth of fungi *Candida albicans*.

Keywords: Soursop Leaf Extract, *Annona muricata*, Oral Candidiasis, *Candida albicans*, Antifungal.

INTISARI

Penyakit kandidiasis mudah menjangkiti bayi balita. *Candida albicans* biasa berada di mulut, lidah, dan bibir. Jamur ini merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh tingkat kebersihan dan kebiasaan manusia. Buah, biji, daun, kulit kayu, dan akar tanaman sirsak telah digunakan sebagai obat tradisional. Daun sirsak (*Annona muricata*) adalah salah satu rahmat dari Allah SWT. Manfaat flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik digunakan untuk pencegahan kanker, melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang, dan antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Ekstrak etanol daun sirsak diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pengujian aktivitas antijamur menggunakan metode difusi dengan konsentrasi ekstrak daun sirsak 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Hasil pengujian aktivitas antijamur ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap *Candida albicans* menunjukkan tidak terdapat zona jernih pada masing-masing konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Hasil analisis data pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak tidak dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Terdapat beberapa penyebab ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) tidak dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Ekstraksi daun sirsak (*Annona muricata*) menggunakan etanol 70% kurang melarutkan senyawa metabolit sekunder yang berpengaruh pada pertumbuhan *Candida albicans*. Pengambilan lokasi sampel daun sirsak dengan kondisi lingkungan yang berbeda juga dapat mempengaruhi kualitas daun sirsak. Kandungan antijamur yang ada pada ekstrak daun sirsak daerah Pundong, Bantul tidak cukup kuat untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Kata kunci: Ekstrak Daun Sirsak, *Annona muricata*, Kandidiasis, *Candida albicans*, Antijamur.

PENDAHULUAN

Iklim tropis Indonesia, dengan cuaca lembab dan hangat yang sering terjadi, sangat cocok untuk berkembang biakan jamur. Jenis infeksi jamur yang paling sering terjadi di rongga mulut yaitu kandidiasis (Morgan, *et al.*, 2012), yakni infeksi yang disebabkan oleh jenis mikroorganisme jamur *Candida albicans* (Irianto, 2013). Penyakit ini mudah menjangkiti bayi dan balita. Kebanyakan bayi dan balita mengalami kandidiasis di rongga mulut, lidah, dan bibir. Organisme *Candida albicans* dapat menimbulkan infeksi oportunistis jika terdapat faktor predisposisi yang mendukung, seperti kondisi immunosurpesi, keganasan, penggunaan antibiotik sepektrum luas, pemakaian gigi tiruan, merokok, dan xerostomia (Ongole dan Praveen, 2013). *Candida albicans* bukan hanya dapat tumbuh pada rongga mulut tetapi juga berada di saluran pencernaan, pernafasan, dan genital wanita (Irianto, 2014).

Pertumbuhan jamur penyebab kandidiasis dapat dicegah dengan antijamur. Namun, penggunaan zat antijamur tidak diperkenankan digunakan secara berlebihan karena dapat mengakibatkan resistensi terhadap zat tersebut. Salah satu antijamur yang biasa digunakan untuk perawatan kandidiasis oral adalah nistatin. Beberapa formulasi suspensi oral nistatin terdapat gula yang

dapat menyebabkan hiperglikemia terutama penderita diabetes (Aschenbrenner dan Venable, 2009). Antijamur nistatin menimbulkan efek samping berupa mual, muntah, dan gangguan pencernaan (Garcia-Cuesta, *et al.*, 2014). Akibat dari efek samping yang ditimbulkan oleh antijamur kimia maka dikembangkanlah antibiotik dari bahan herbal.

Daun, kulit kayu, akar, buah, dan biji buah daun sirsak telah digunakan sebagai obat tradisional di luar negeri sebagai pembasmi hama, demam, meningkatkan air susu ibu, obat diare, antispasme, sedatif, obat batuk, flu, asma, dan hipertensi (Taylor, 2002 dan Lans, 2006). Hingga saat ini, hasil penelitian terhadap daun sirsak menunjukkan khasiat bagi kanker payudara (Rachmani *et al.*, 2012), efek antioksidan yang baik (Baskar *et al.*, 2007), antibakteri Gram negatif dan Gram positif (Pathak *et al.*, 2010; Namita dan Rawat, 2012), antitumor (Hamizah *et al.*, 2012), dan efek anti-inflamasi (Sousa *et al.*, 2010). Kandungan daun sirsak yang digunakan sebagai pengobatan adalah flavonoid. Manfaat flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik digunakan untuk pencegahan kanker, melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang, dan antibiotik. Dalam banyak kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik

dengan mengganggu fungsi organisme seperti bakteri atau virus (Subroto dan Saputro, 2006).

Kondisi adanya efek samping dari penggunaan antijamur kimia membutuhkan pembuatan antijamur alternatif dari bahan dasar herbal sebagai penghambat pertumbuhan jamur penyebab kandidiasis yang efektif. Daun sirsak merupakan salah satu bahan herbal dengan kandungan tanin, flavonoid dan saponin yang berpotensi memiliki efek antijamur. Jamur *Candida albicans* sebagai mikroba patogen penyebab kandidiasis diharapkan pertumbuhannya dapat dihambat oleh ekstrak etanol daun sirsak. Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan penelitian dengan judul Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* melalui Pengamatan Kadar Hambat Minimal Jamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek perbedaan konsentrasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan dibandingkan dengan antijamur nistatin (Mycostatin).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratoris dengan analisis deskriptif kuantitatif. Tahap pertama yang ditempuh bertujuan untuk mengetahui zona hambat; tahap kedua untuk mengetahui

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM); dan tahap ketiga mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada dan Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Dinas Kesehatan Daerah Istimewa Yogyakarta. Sampel yang digunakan adalah ekstrak daun sirsak konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Jamur *Candida albicans* yang digunakan merupakan kultur murni yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Dinas Kesehatan Daerah Istimewa Yogyakarta.

Daun sirsak muda dipetik hingga sebanyak 2 kg kemudian dicuci, dipotong-potong, dan dikeringkan suhu 50°C selama 24 jam. Daun selanjutnya dimasukkan ke mesin penggiling untuk dihancurkan menjadi serbuk. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk daun sirsak dalam pelarut etanol 70% selama 24 jam kemudian disaring. Perendaman residu diulang 2 kali agar komponen bahan aktif pada daun sirsak dapat terambil dengan baik. Maserat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan pelarutnya diuapkan menggunakan rotavapor dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Suhu ini digunakan agar ekstrak tidak kehilangan senyawa aktif yang tidak tahan panas (Restasari, 2008 dan Sarker, *et al.*, 2006).

Jamur *Candida albicans* dari biakan murni diregenerasi dengan cara diinokulasikan ke media SDA lalu diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Jamur hasil biakan diambil dengan ose steril dari lima koloni berbeda berdiameter sekitar 1 mm kemudian disuspensi dalam 5 mL larutan NaCl 0,85%. Larutan diencerkan hingga diperoleh absorbansi setara 0,5 standar McFarland pada λ 520-625 nm menghasilkan 1×10^6 cfu/mL sampai 5×10^6 cfu/mL suspensi jamur (NCCLS, 2004).

Biakan dibagi menjadi 7 sektor dan masing-masing disiapkan media *sabaroud agar*, kemudian bagian bawah plate dibuat garis-garis pembagi menggunakan spidol dan dilabeli. Uji daya antifungi ekstrak daun sirsak terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan sesuai dengan hasil perhitungan estimasi besar sampel. Masing-masing bagian dibuat sumuran dengan diameter 6 mm dan kedalaman 3 mm, lalu plate diolesi secara merata dengan jamur *Candida albicans*. Selanjutnya, tiap

sumuran ditetaskan 50 μ l ekstrak daun sirsak pada konsentrasi berbeda, nistatin untuk kontrol positif, dan akuades steril untuk kontrol negatif. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya daerah bening di sekeliling sumuran menunjukkan adanya aktivitas antijamur. Potensi mikroba diukur dengan melihat zona hambat menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm) (Ernst dan Rogers, 2005).

HASIL

Hasil penelitian diperoleh dengan mengukur diameter zona radikal yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Data hasil penelitian secara laboratoris mengenai uji kepekaan ekstrak daun sirsak terhadap jamur *Candida albicans* pada Tabel 1 menunjukkan bahwa sumuran pada kontrol negatif tidak terdapat zona radikal. Sumuran kontrol positif terdapat zona radikal sebesar 10,675 mm. Sumuran yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% hasilnya

Percobaan ke-	Kelompok Perlakuan						Kontrol Negatif (Akuades steril)
	Kontrol Positif (Nistatin)	Ekstrak 20%	Ekstrak 40%	Ekstrak 60%	Ekstrak 80%	Ekstrak 100%	
1	10,70	0	0	0	0	0	0
2	10,30	0	0	0	0	0	0
3	11,00	0	0	0	0	0	0
4	10,70	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	10,675	0	0	0	0	0	0

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan *Candida albicans* (mm).

nol atau tidak ada pengaruh. Kontrol negatif yaitu hanya menggunakan akuades steril juga tidak memberikan pengaruh terhadap jamur *Candida albicans*.

PEMBAHASAN

Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan daun sirsak tidak berpengaruh signifikan terhadap jamur *Candida albicans*. Hasil penelitian terdahulu, yang dilakukan oleh Masloman, *et al.* (2016) dengan judul *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata) Terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans*, memakai etanol 96% dalam melakukan ekstraksi. Sementara pada penelitian ini menggunakan etanol 70% untuk ekstraksi. Pemilihan etanol 70% dikarenakan terdapat kandungan air 30%, agar zat-zat yang terlarut di air lebih banyak sehingga lebih banyak yang terekstraksi

Pada penelitian Masloman, *et al.* (2016), sampel daun sirsak diperoleh di daerah perkebunan Tondano, Kabupaten Minahasa, seberat 500 gram sedangkan pada penelitian ini, daun sirsak diambil di Kecamatan Pundong, Kabupaten Bantul. Jurnal yang ditulis oleh Zlatic dan Stankovic (2017) berjudul *Variability of Secondary Metabolites of the Species Cichorium intybus L. from Different Habitats*, menjelaskan bahwa Faktor ekologis yang berbeda secara langsung mempengaruhi metabolisme primer

tanaman sehingga memiliki efek yang berbeda. Sejalan dengan itu, terjadi diferensiasi metabolisme sekunder. Fungsi utama metabolit sekunder adalah partisipasi mereka dalam proses adaptasi tanaman terhadap efek faktor ekologis. Dari sudut pandang evolusi, biosintesis metabolit sekunder pada tanaman dianggap sebagai respon ekofisiologis tanaman terhadap pengaruh faktor abiotik yang berbeda di habitat tertentu, termasuk salinitas. Metabolit sekunder ikut serta dalam proses adaptasi tanaman terhadap kondisi ekologis lingkungan dan kuantitasnya dalam organ tanaman bervariasi tergantung pada kedua faktor abiotik dan biotik yang dimiliki tanaman. Dapat disimpulkan dari penelitian tersebut bahwa lokasi penanaman suatu tumbuhan dapat mempengaruhi adekuat kandungan tanaman tersebut, tetapi tidak mempengaruhi secara susunan (Zlatic dan Stankovic, 2017).

Penelitian terdahulu yang berjudul *Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera Lamk.) Terhadap Candida albicans Secara In Vitro* oleh Kurniawan (2015) menjelaskan bahwa daun kelor mengandung fenol, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid, namun ekstrak daun kelor tidak memiliki zona hambat sebagai antijamur pada pertumbuhan *C. albicans*. Hal ini diduga karena jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder yang telah disebutkan

tidak adekuat untuk menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian tersebut hanya dapat membuktikan adanya suatu senyawa metabolit sekunder secara kualitatif, tidak secara kuantitatif. Kadar kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang tumbuh pada daerah dengan ketersediaan air yang tinggi dikatakan lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman pada daerah yang lebih kering. Selain itu, belum ada penelitian yang menyebutkan jumlah minimal suatu senyawa metabolit sekunder untuk menghambat *C. albicans*. Hal ini menyebabkan jumlah senyawa metabolit sekunder yang diperlukan dari ekstrak etanol daun kelor tidak dapat ditentukan apakah cukup untuk mampu menghambat *C. albicans*. Oleh karena itu, diperlukan senyawa metabolit sekunder yang lebih spesifik dengan kadar lebih tinggi untuk bisa melihat aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antijamur, khususnya *C. albicans*. Penelitian tersebut memiliki kemiripan dengan daun sirsak yang juga mempunyai fenol, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid, namun juga tidak berpengaruh atau memiliki daya hambat terhadap jamur *Candida albicans*. Dapat ditarik kesimpulan bahwa jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak daun sirsak tersebut diduga tidak adekuat untuk menghambat pertumbuhan *C. albicans*

sehingga tidak dapat menghambat daya pertumbuhan jamur *C. albicans* (Kurniawan, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan data diatas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol 70% tidak berpengaruh terhadap daya hambat jamur *Candida albicans*. Perbedaan ekologi juga berpengaruh terhadap kualitas sehingga mengakibatkan zat pendukung daya hambat untuk jamur *Candida albicans* menjadi lemah.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian daya antijamur ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap jenis jamur yang lain. skrining lanjutan ekstrak daun sirsak untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder yang lebih murni dan diteliti secara *in vitro* untuk mengetahui kadar minimal senyawa bisa menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Perlu dilakukan penelitian untuk pengekstrakan daun sirsak dengan pelarut dan metode lain agar senyawa yang diperoleh lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aschenbrenner, Diane S. dan Venable, Samantha J. 2009. *Drug Therapy in Nursing 3rd ed.* USA: Wolters Kluwer Health Lippincott Williams & Wilkins
2. Baskar, R., Rajeswari V., dan Kumar T.S. 2007. In Vitro Antioxidant Studies

- in Leaves of Annona Species. *Indian J Exp Biol* May 2007, 45 (5): 480-485
3. Ernst, Erika J. dan Rogers, P. David. Eds. 2005. *Antifungal Agents Methods and Protocols*. New Jersey: Humana Press
 4. Garcia-Cuesta, C., Sarrion-Pérez M.G., Bagán J.V. 2014. Current Treatment of Oral Candidiasis: A Literature Review. *J Clin Exp Dent* 2014, 6 (5): e576-e582
 5. Hamizah, Sulaiman, A.H. Roslida, O. Fezah, K.L. Tan, Y.S. Tor, dan C.I. Tan. 2012. Chemopreventive Potential of *Annona muricata* L. Leaves on Chemically-Induced Skin Papillomagenesis in Mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2012: 13
 6. Irianto K. 2013. *Mikrobiologi Medis*. Bandung: Alfabeta
 7. Irianto K. 2014. *Bakteriologi Medis, Mikrobiologi Medis, dan Virology Medis*. Bandung: Alfabeta
 8. Kurniawan, Dwi. 2015. *Uji AKtivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera Lamk.) Terhadap Candida albicans Secara In Vitro*. Skripsi tidak diterbitkan. Pontianak: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
 9. Masloman, Agista P., et al. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT* 2016 ISSN 2303-2493 November 2016, 5 (4): 61-68
 10. Morgan G, Coleman D, Sullivan D. 2012. *Candida albicans* Versus *Candida dubliniensis* Why is *Candida albicans* More Pathogenic. *International Journal of Microbiology* 7: 1
 11. Namita, Parmar dan Rawat Mukesh. 2012. Medicinal Plants Used as Antimicrobial Agents: A Review. *International Research Journal of Pharmacy* January 2012, 3 (1), 31-40
 12. NCCLS. 2004. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline. *NCCLS document M44-A* ISBN 1-56238-532-1, 24 (15): 1-36
 13. Ongole R, Praveen B.N. 2013. *Textbook of Oral Medicine, Oral Diagnosis and Oral Radiology*. India: Elsevier
 14. Pathak, P., Saraswarthy, N., Vora. A, Savai J. 2010. In Vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of the Leaves of *Annona muricata*. *International Journal of Pharmaceutical Research & Development* Juli 2010, 2 (5): 1-5
 15. Rachmani, Eka P.N., Tuti S.S., Retno W., Adityono. 2012. The Breast of Anticancer From Leaf Extract of *Annona muricata* Againsts Cell Line In T47D. *International Journal of Applied Science and Technology* January 2012, 2 (1): 157-164
 16. Restasari A. 2008. Isolasi dan Identifikasi Fraksi Teraktif dari Ekstrak Kloroform Daun Ketapang *Terminalia catappa* Linn. Skripsi tidak diterbitkan. Semarang: Universitas Diponegoro
 17. Sarker, Satyajit D., et al. Eds. 2006. *Methods In Biotechnology Natural Products Isolation Second Edition*. New Jersey: Humana Press
 18. Sousa, Orlando Vieira de, Glauciemar Del-Vechio Vieira, José de Jesus R. G. de Pinho, Célia Hitomi Yamamoto dan Maria Silvana Alves. 2010. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. *International Journal of Molecular Science* Mei 2010, 11 (5): 2067-2078
 19. Subroto, A. dan Saputro, H. 2006. *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut*. Jakarta: Penebar Swadaya
 20. Taylor, L. 2002. *Technical Data Report for Graviola Annona muricata*. Austin: Sage Press

21. Zlatic, Nenad M. dan Stankovic, Milan S. 2017. Variability of Secondary Metabolites of the Species *Cichorium Intybus* L. from Different Habitats. *Journal Plants MDPI* September 2017, 6 (38): 1-9