

Efek Seduhan Freeze-Dried Cascara Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Varietas Flores Bajawa terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* In Vitro

(The Effect of Freeze-Dried Flores Bajawa Variety Robusta Coffee (*Coffea canephora*) Cascara Brew on the Growth of *Candida albicans* In Vitro)

Christian Emmanuel¹, I Dewa Ayu Susilawati², I Dewa Ayu Ratna Dewanti²

¹ Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

² Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

Abstrak

Candida albicans (*C. albicans*) merupakan jamur patogenik oportunistik yang mudah beradaptasi dan sering menyebabkan infeksi pada manusia terlebih pada pasien perawatan intensif. Di samping itu penggunaan obat sering menimbulkan resistensi. Interaksi obat, efek samping, toksisitas, dan adanya kemungkinan hipersensitifitas, memunculkan kebutuhan untuk menemukan dan mengembangkan agen antijamur baru yang dapat secara efektif mengatasi ancaman-ancaman tersebut. Cascara, kulit buah kopi yang biasanya dianggap limbah, memiliki potensi sebagai agen antijamur alami. Cascara kopi robusta yang digunakan dalam penelitian ini diolah melalui proses ekstraksi dilanjutkan dengan freeze-drying untuk menjaga kandungan bioaktifnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek seduhan cascara kopi robusta varietas Flores Bajawa freeze-dried terhadap pertumbuhan *C. albicans* secara in vitro. Sampel penelitian berupa suspensi *C. albicans* dalam sabouraud dextrose agar yang diberi perlakuan. Kelompok penelitian dibagi menjadi 6 kelompok yaitu: kontrol positif (nistatin 100.000 IU), kontrol negatif (aquades), kelompok perlakuan dengan pemberian seduhan cascara freeze-dried berbagai konsentrasi yaitu E1 (100%), E2 (50%), E3 (25%), dan E4 (12,5%). Uji aktivitas antijamur dilakukan dengan metode well diffusion. Efek antijamur diamati dengan mengukur zona inhibisi yang terbentuk setelah tahap inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan seduhan freeze-dried cascara kopi robusta varietas Flores Bajawa konsentrasi 100% dan 50% mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Adanya kesetaraan efek antijamur antara seduhan cascara freeze-dried konsentrasi 100% dengan nistatin. Seduhan cascara kopi robusta freeze-dried terbukti dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi tinggi.

Kata kunci: Agar well diffusion, *Candida albicans*, Cascara kopi robusta

Abstract

Candida albicans is a pathogenic opportunistic fungus that easily adapts and frequently causes infections in humans. Given the limitations of antifungal drug options, the continuous development of resistance among *Candida* species to most currently used antifungal drugs, drug interactions, side effects, toxicity, and the potential for hypersensitivity, there is a need to discover and develop new antifungal agents that can effectively address these threats. Cascara, the skin of coffee fruit usually considered waste, has potential as a natural antifungal agent. The cascara from robusta coffee used in this study was processed through extraction followed by freeze-drying to preserve its bioactive compounds. The aim of this research is to evaluate the effect of freeze-dried cascara robusta coffee infusion from the Flores Bajawa variety on the growth of *C. albicans* in vitro. The research subjects were suspensions of *C. albicans* in Sabouraud dextrose agar that received treatment. There were 6 study groups: positive control (nystatin 100,000 IU), negative control (distilled water), treatment group by administering freeze-dried cascara infusion of various concentrations, namely E1 (100%), E2 (50%), E3 (25%), and E4 (12.5%). The antifungal activity test was conducted using the agar well diffusion method and observed by measuring the inhibition zones formed after the incubation stage. The study showed that 100% and 50% concentration of freeze-dried cascara infusion can inhibit the growth of *C. albicans*. Freeze-dried robusta coffee cascara infusion can inhibit the growth of *C. albicans*. There was equality of antifungal effect between nystatin and 100% concentration of freeze-dried cascara infusion.

Keywords: Agar well diffusion, *Candida albicans*, Robusta coffee cascara

Korespondensi (Correspondence): I Dewa Ayu Ratna Dewanti, Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37 Jember 68121.Hp. 081249450970. Email: idewadewanti@yahoo.com.

Candida albicans (*C. Albicans*) merupakan salah satu spesies jamur yang terdapat dalam mikroflora tubuh manusia. Saat terjadi ketimpangan dalam mikroflora karena beberapa faktor seperti faktor host dan faktor lingkungan, *C. albicans* dapat memanfaatkan kesempatan tersebut dan menginfeksi host. Oleh karena itu, *C. albicans* dikatakan sebagai organisme patogen oportunistik. Infeksi *Candida* biasa dikenal sebagai candidiasis¹.

Penanganan kasus candidiasis secara umum menggunakan obat antijamur. Pilihan obat antijamur yang digunakan saat ini sangat terbatas, belum lagi ditambah dengan mempertimbangkan berbagai batasan lain. Keterbatasan yang dimaksud secara umum meliputi resistansi obat, interaksi obat, efek samping, toksisitas, dan adanya kemungkinan

hipersensitifitas. Oleh karena itu dibutuhkan alternatif alami dalam menangani candidemia yang terus berkembang².

Bahan alami yang menjadi fokus penelitian ini adalah cascara kopi robusta varietas Flores Bajawa. kopi bajawa memiliki kualitas yang sangat baik, ciri khas yang kuat, dengan kadar air mencapai 13 persen³. Selain itu kopi Flores Bajawa menerapkan perawatan tanpa zat kimia maupun pestisida yang membuat aromanya muncul secara alami dan kuat⁴. Cascara dalam industri perkebunan kopi dianggap sebagai limbah dan seringkali diolah menjadi bahan campuran pakan ternak. Sama dengan biji kopi, cascara juga kaya akan manfaat. Kandungan di dalam cascara dapat dimanfaatkan sebagai agen antimikroba alami. Pada penelitian ini, cascara digunakan dalam bentuk bubuk yang dihasilkan dari proses

freeze-drying ekstrak cascara. Freeze-drying dilakukan untuk menjaga kualitas komponen bioaktif dalam cascara dan juga menjaga kesterilan⁵.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Objek penelitian ini adalah *C. albicans* yang diinokulasi pada media agar dan diberi perlakuan dengan seduhan freeze-dried cascara kopi robusta. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post-test only control group design* yaitu melakukan pengamatan hambatan pertumbuhan *C. albicans* setelah diberi perlakuan seduhan freeze-dried cascara kopi robusta dan hasilnya dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Bahan yang digunakan antara lain: *C. Albicans* ATCC 10231 dari Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember, bubuk seduhan freeze-dried cascara kopi robusta varietas Flores Bajawa, Sabouraud Dextrose Broth (Millipore, Merck KgaA), Sabouraud 4% Dextrose Agar (Millipore, Merck KgaA), Nistatin 100.000 IU (Nystatin, Novell Pharmaceutical Laboratories), dan aquades steril.

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Cascara atau kulit buah kopi kering diambil dari perkebunan kopi Bajawa, Kabupaten Ngada, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Buah kopi dipetik merah, dipilah kulitnya, dibersihkan, dan dikeringkan menggunakan sinar matahari di atas terpal selama 48 jam. Kemudian, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Cascara dihaluskan menggunakan blender, ditumbuk, dan diayak menggunakan mesh ukuran 50 μ .

Ekstraksi dan Freeze-Drying

Cascara diekstraksi menggunakan metode maserasi. Bubuk cascara yang sudah diayak ditimbang sebanyak 25 gram dan dicampur hingga homogen dengan 250 mL aquades steril dalam botol kaca 500 mL. Botol kaca dipanaskan menggunakan water bath bersuhu 90°C selama 1 menit saat campuran dalam botol kaca mendidih. Campuran dalam botol kaca dibiarkan dingin hingga suhu ruang dan disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Supernatan dituang ke dalam botol kaca steril dan di freeze-dry pada suhu -60°C, tekanan 10 Pa, selama 24 jam⁷.

Sterilisasi Alat

Alat yang terbuat dari kaca seperti gelas ukur, tabung reaksi, petridish, dan lainnya disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah semua alat selesai disterilisasi dibersihkan menggunakan alkohol kemudian dimasukkan ke dalam laminar flow yang telah dilapisi aluminium foil lalu dilakukan penyinaran UV selama 1 jam. Alat yang terbuat dari plastik dicuci menggunakan air sampai bersih kemudian dikeringkan dan diusap menggunakan alkohol 70%.

Pembuatan Suspensi

C. albicans yang digunakan dalam penelitian ini dalam stock murni yang ditubuhkan pada agar slant yang diawetkan pada suhu 4°C dalam lemari es. Suspensi dibuat dengan mencampur 2 mL larutan Sabouraud Dextrose Broth (SDB) steril ke tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *C. albicans*. Tabung reaksi kemudian ditutup lalu dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, suspensi divibrasi dengan termolyne dan diukur absorbansi dengan standar turbiditas 0,5 Mc Farland (1,5x10⁶ CFU/mL) yang diukur menggunakan densicheck⁸.

Pembuatan Media Uji

Bubuk Sabouraud Dextrose Agar (SDA) sebanyak 13 gram dan aquades steril sebanyak 200 mL dicampur, diaduk dalam tabung Erlenmeyer hingga homogen dan dipanaskan di atas kompor listrik. Media SDA kemudian disterilkan dalam autoclave suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media SDA yang steril akan tetap berwarna jernih dan tidak muncul kekeruhan setelah diinkubasi⁹. Media SDA hangat dengan suhu 50°C diinokulasi menggunakan 1 mL suspensi *C. albicans*. Agar yang sudah diinokulasi dengan metode pour plate, dituang ke dalam petridish, mencapai ketebalan 4mm dan dibiarkan mendingin pada permukaan datar. Saat media sudah menjadi solid, sebanyak 6 sumuran berdiameter 4 mm dibuat menggunakan cork borer yang steril.

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode agar well diffusion. Perlakuan *C. albicans* dalam media agar pada petridish dengan pemberian seduhan freeze-dried cascara kopi robusta terbagi menjadi 6 kelompok yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif (K-) menggunakan aquades steril
2. Kelompok kontrol positif (K+) menggunakan Nistatin 100.000 IU (Nystatin)
3. E1 yaitu konsentrasi 100% (100 gram seduhan freeze-dried cascara kopi per 100 mL aquades).
4. E2 yaitu konsentrasi 50% (50 gram seduhan freeze-dried cascara kopi per 100 mL aquades).
5. E3 yaitu konsentrasi 25% (25 gram seduhan freeze-dried cascara kopi per 100 mL aquades).
6. E4 yaitu konsentrasi 12,5% (12,5 gram seduhan freeze-dried cascara kopi per 100 mL aquades).

Pada perlakuan K+ memakai nistatin sebanyak 20 μ L. Petridish yang telah diberikan perlakuan dilakukan inkubasi ke dalam inkubator yang telah diatur dengan suhu 37°C selama 48 jam⁹.

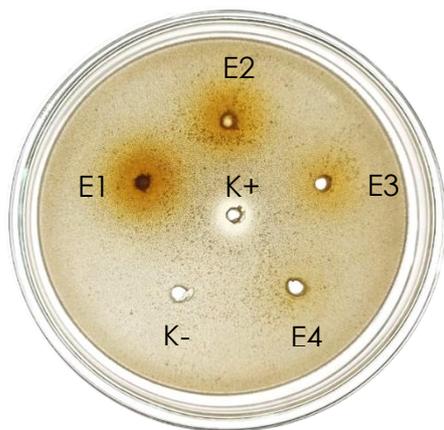
Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan metode agar well diffusion. Pengukuran hasil menggunakan jangka sorong

digital pada daerah berwarna bening di sekitar well. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) bersebrangan dengan melewati pusat sumuran dilakukan secara tegak lurus. Cara pengukuran dapat menggunakan diameter vertikal dan diameter horizontal kemudian dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambat = $\frac{A+B}{2}$. Pengukuran dilakukan 3 kali dengan orang berbeda dan diambil rata-rata. Ketiga pengamat sebelumnya diberikan penjelasan mengenai cara pengukuran untuk menyamakan persepsi dalam mengukur zona hambat. Konsentrasi terkecil pada sampel yang mampu menghambat pertumbuhan jamur yang diinokulasikan merupakan konsentrasi minimum dari sampel tersebut yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. Albicans*¹⁰.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian efek seduhan cascara kopi robusta *freeze-dried* varietas flores bajawa terhadap pertumbuhan *C. albicans* dengan metode Agar-well diffusion dapat dilihat pada gambar 1. Sedangkan rata-rata diameter zona hambat yang dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2.



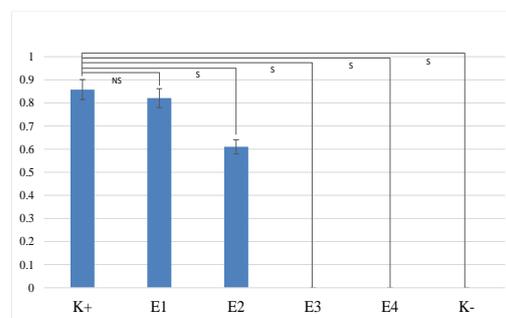
Gambar 1. Hasil analisis dengan metode Agar-well diffusion: efek seduhan cascara kopi robusta *freeze-dried* varietas flores bajawa terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

(K+ = Kontrol Positif, E1 (FDCC 100 gram/100 mL Aquades), E2 (FDCC 50 gram/100 mL Aquades), E3 (FDCC 25 gram/100 mL Aquades), E4 (FDCC 12,5 gram/100 mL Aquades), K- = Kontrol Negatif, FDCC = *Freeze Dried Coffee Cascara*)

Tabel 1. Tabel hasil pengukuran zona hambat efek seduhan cascara kopi robusta *freeze-dried* varietas flores bajawa terhadap pertumbuhan *C. albicans*

Kelompok	Jumlah Plate	Rata-rata (mm) ($\bar{X} \pm SD$)
K+	4	0.858 ± 0.040
K-	4	0 ± 0
E1	4	0.821 ± 0.036
E2	4	0.610 ± 0.026
E3	4	0 ± 0
E4	4	0 ± 0

Keterangan: K+ = Kontrol Positif, E1 (FDCC 100 gram/100 mL Aquades), E2 (FDCC 50 gram/100 mL Aquades), E3 (FDCC 25 gram/100 mL Aquades), E4 (FDCC 12,5 gram/100 mL Aquades), K- = Kontrol Negatif, FDCC = *Freeze Dried Coffee Cascara*)



Gambar 2. Efek seduhan cascara kopi robusta *freeze-dried* varietas flores bajawa terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

(K+ = Kontrol Positif, E1 (FDCC 100 gram/100 mL Aquades), E2 (FDCC 50 gram/100 mL Aquades), E3 (FDCC 25 gram/100 mL Aquades), E4 (FDCC 12,5 gram/100 mL Aquades), K- = Kontrol Negatif, FDCC = *Freeze Dried Coffee Cascara*, S = terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), NS = tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$).

Pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa nilai rata-rata diameter zona hambat berturut-turut dimulai dari nilai terbesar adalah pada kelompok Kontrol Positif sebesar 0,858 mm, kelompok E1 sebesar 0,821 mm, kelompok E2 0,610 mm, dan kelompok E3, E4, dan Kontrol Negatif yang tidak mempunyai zona hambat. Hasil data kemudian diuji dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Signifikansi hasil pengujian dalam setiap kelompok sampel menunjukkan nilai $> 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut berdistribusi normal.

Setelah dilakukan uji normalitas, dilanjutkan dengan uji homogenitas Levene. Signifikansi hasil pengujian menunjukkan angka 0,563 dan lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan data yang diuji merupakan data homogen. Data yang berdistribusi normal dan homogen tersebut kemudian diuji menggunakan uji statistik parametrik One-Way ANOVA. Hasil pengujian menunjukkan signifikansi kurang dari 0,05 yakni 0,000 sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing kelompok sampel memiliki perbedaan yang bermakna (tabel 2).

Tabel 2. Uji statistik efek seduhan cascara kopi robusta freeze-dried varietas flores bajawa terhadap pertumbuhan *C. albicans*

Uji Statistik	Signifikansi (p)
Shapiro-Wilk	>0.05
Levene	0.563
One-Way Anova	0.000
Post-Hoc LSD (K+, E1)	0.156
Post-Hoc LSD (K+, K-, E2, E3, E4)	0.000

Setelah dilakukan uji One-Way ANOVA, untuk mengetahui perbedaan rata-rata diameter zona hambat antar kelompok sampel dilakukan uji Post-Hoc LSD. Hasil pengujian menunjukkan adanya perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok sampel kontrol positif dengan kelompok E1 (100%), dengan nilai $p > 0,05$ yakni sebesar 0,156. Pada perbedaan antar kelompok lainnya terdapat perbedaan yang bermakna antar tiap kelompok sampel, ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$ yakni sebesar 0,000.

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan tujuan untuk mengetahui efek antijamur seduhan cascara kopi robusta freeze-dried terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Proses pengeringan dengan metode freeze-drying lebih unggul jika dibandingkan dengan metode pengeringan lainnya karena menggunakan suhu dan tekanan rendah untuk mengdehidrasi cascara. Rendahnya suhu yang dipakai dalam metode tersebut dapat menjaga keutuhan (tidak berubah, baik jenis atupun konsentrasinya) dari kandungan cascara⁹.

Penelitian ini membuktikan terdapat perbedaan tidak bermakna antara kontrol + dengan E1 (100%), diduga karena konsentrasi yang tinggi kandungan bioaktif pada cascara yang berperan sebagai antibakteri yang kuat setara dengan nystatin. Perbedaan bermakna juga ditemui antara kontrol (-) dengan E1 (100%) dan kontrol dengan E2 (50%). Artinya Semakin tinggi konsentrasi komponen biaktif, maka semakin tinggi daya hambat bakteri. Pada penelitian ini hanya digunakan 50gram cascara, sehingga dimungkinkan hanya sedikit senyawa bioaktif yang terlarut. Karena semakin banyak daun yang digunakan, diduga akan memperbanyak

senyawa bioaktif terlarut dan meningkatkan aktivitas antibakteri¹¹.

Cascara merupakan kulit buah kopi yang hanya dianggap sebagai produk sampingan produksi biji kopi dan biasanya dibuang sebagai limbah atau digunakan untuk bahan campuran pakan ternak. Cascara yang sudah dibersihkan dan dikeringkan dapat diseduh dan dikonsumsi. Cascara kaya akan antioksidan yang dapat menyehatkan tubuh serta mengandung metabolit sekunder lainnya seperti flavonoid, alkaloid, asam fenolik, dan triterpenoid yang memiliki efek antimikroba. Senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan dengan merusak dinding sel jamur, memicu stress oksidatif pada jamur, mengganggu sintesis protein, serta menghambat proses enzimatis di dalam sel jamur¹².

Pada suhu optimal yakni 37°C, *C. albicans* dapat tumbuh secara optimal dan dapat mendukung adanya perubahan morfologi. Walaupun kepadatan sel *C. albicans* dalam penelitian ini memenuhi kriteria optimal pertumbuhan dalam bentuk spora (0,5 McFarland), ketika terdapat paparan oleh nistatin dan seduhan cascara kopi robusta freeze-dried yang memiliki efek antijamur, *C. albicans* dapat meningkatkan kemampuan untuk bertahan hidup dengan merubah bentuk menjadi pseudohifa maupun hifa. Bentuk pseudohifa dan hifa jauh lebih kuat dalam kondisi yang sulit, dinding sel mengalami perubahan untuk mengurangi permeabilitas terhadap agen antijamur. Selain itu, perubahan bentuk yang terelongasi mendukung adanya adhesi terhadap media dan juga mendukung pembentukan lapisan biofilm¹³.

Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa daya hambat atau efek antijamur terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada seduhan freeze-dried cascara kopi robusta konsentrasi 100% setara dengan nistatin (K+). Seduhan freeze-dried cascara kopi robusta varietas Flores Bajawa juga terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 50%. Penelitian ini menjadi landasan untuk penelitian-penelitian lanjutan berikutnya. Adapun Penelitian lanjutan dapat berupa optimasi konsentrasi seduhan cascara dan penelitian *in vivo*. Di samping itu juga perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji seduhan cascara sebagai suplemen dan *adjuvant*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. In *Virulence* (Vol. 4, Issue 2, pp. 119–128). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.4161/viru.22913>
2. Dubey, A. K., & Singla, R. K. (2019). Current Trends in Anti-Candida Drug Development. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 19(28), 2525–2526. <https://doi.org/10.2174/156802661928191206162925>

3. <https://apps.detik.com/detik/>. Diakses 10 Oktober 2024.
 4. <https://kopitem.com/tentang-kopi/kopi-flores/>, diakses 10 Oktober 2024.
 5. Nowak, D., & Jakubczyk, E. (2020). The freeze-drying of foods⇒the characteristic of the process course and the effect of its parameters on the physical properties of food materials. In *Foods* (Vol. 9, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods9101488>
 6. Nafisah, D., Dewanti, T., Teknologi, W. J., Pertanian, H., Universitas, F., Malang, B., Veteran, J., & Korespondensi, P. (2018). Kajian Metode Pengeringan dan Rasio Penyeduhan-Nafisah, dkk. In *Jurnal Pangan dan Agroindustri* (Vol. 6, Issue 3).
 7. Hu, D., Liu, X., Qin, Y., Yan, J., Li, R., & Yang, Q. (2023). The impact of different drying methods on the physical properties, bioactive components, antioxidant capacity, volatile components and industrial application of coffee peel. *Food Chemistry: X*, 19. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100807>
 8. Chusaeni, A. F., Wibisono, G., & Skripsa, T. H. (2021). Pengaruh Paparan Gas Ozon terhadap Jumlah Koloni Jamur *Candida albicans*. *E-GiGi*, 9(2), 167. <https://doi.org/10.35790/eg.9.2.2021.3232>
 9. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. In *Journal of Pharmaceutical Analysis* (Vol. 6, Issue 2, pp. 71–79). Xi'an Jiaotong University. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
 10. Carrillo-Muñoz, A. J. (2010). Antifungal activity of posaconazole against *Candida* spp. and non-*Candida* clinical yeasts isolates. In *Rev Esp Quimioter* (Vol. 23, Issue 3).
 11. Wisudawan, Andi Sitti Fahira, Arsal, Achmad Imron, Aryanti Bamahri, Armanto Makmun. (2021). Uji Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Daun Binahong terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Fakumi Medical Journal : Jurnal Mahasiswa Kedokteran* (Vol.1, No.2):133-151. <https://fmj.fk.umi.ac.id/index.php/fmj>.
 12. Adriana, F. (2019). Coffee: Consumption and Health Implications. In *Coffee* (pp. P001–P004). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781788015028-fp001>
- Chen, H., Zhou, X., Ren, B., & Cheng, L. (2020). The regulation of hyphae growth in *Candida albicans*. In *Virulence* (Vol. 11, Issue 1, pp. 337–348). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1748930>