

Perbedaan Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Pada Berbagai Konsentrasi Perasan Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Secara *In Vitro*

Dita Artanti¹⁾, Guntari Bekti Lestiana

Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medik Universitas Muhammadiyah Surabaya

¹⁾dita.artanti3009@yahoo.com

ABSTRACT

Tanggal Submit:
18 April 2018

Tanggal Review:
18 Mei 2018

Tanggal Publish
Online:
23 Mei 2018

Manalagi is one type of apple that is consumed by many Indonesian people, because it tastes sweet, tasty, easy to get and the price is quite affordable. The Manalagi apple rind contains some phytochemical derivatives of polyphenols that have antibacterial effects. *Shigella dysenteriae* is a bacillus bacteria that causes acute diarrhea (dysentery) in most people who lack hygiene. One alternative to prevent the disease is to use natural ingredients as an antibacterial. The aim of this research is to know the different growth of *S. dysenteriae* bacteria in various concentrations of Manalagi apple rind (*Malus sylvestris* Mill.) *In vitro*. The type of this study was experimental consisting of 7 treatments with 4 repetitions. The sample consisted of 7 concentrations of manalagi apple rind (100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, and 0% (control) .The data analysis used ANOVA test with 5% 0.05). The results showed that the growth of *S. dysenteriae* bacteria was only at 0% concentration; 3.125%; 6.25%; 12.5%; and 25%. While at concentrations of 50% and 100% there was no growth of *S. dysenteriae* bacterial colonies. The conclusion of this study proves that Manalagi apple rind has antibacterial power against *S. dysenteriae* bacteria.

Keywords: *Shigella dysenteriae*, Manalagi Apple Rind (*Malus sylvestris* Mill).

PENDAHULUAN

Penyakit diare masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di Negara berkembang seperti di Indonesia. Diare adalah penyebab kematian yang kedua pada anak balita setelah pneumonia. Diperkirakan 4 milyar kasus diare terjadi setiap tahun pada anak balita

di seluruh dunia. Setiap tahun 1,5 juta anak balita meninggal karena diare. Diare membawa kematian lebih cepat pada anak-anak dibanding orang dewasa karena terjadinya dehidrasi dan malnutrisi (Depkes, 2010).

Penyebab yang sering ditemukan di lapangan ataupun secara klinis

adalah diare yang disebabkan infeksi dan keracunan (Depkes RI, 2011). Sedangkan disentri biasanya disebabkan oleh dua hal yakni disentri basiler yang disebabkan oleh basil dan juga disentri amoeba yang disebabkan oleh parasit *Entamoeba histolytica*, akan tetapi *Shigella sp* merupakan penyebab terbanyak terjadinya disentri (Haryadi, 2012).

Shigella merupakan penyebab diare berdarah akut (disentri). *Shigella dysenteriae* berbeda dari serogrup *Shigella* lainnya karena menyebabkan epidemi besar dan disentri berkepanjangan, lebih sering mengalami resistensi antimikroba dan menyebabkan penyakit yang sering berakibat fatal dari pada infeksi serogrup *Shigella* lainnya.

Shigella dysenteriae merupakan bakteri gram negatif yang berukuran 0,5 – 0,7 μm x 2 – 3 μm . Bentuknya batang pendek, tidak berspora, tidak berflagel sehingga tidak bergerak, dapat memiliki kapsul. Koloni *Shigella* cembung, bundar, transparan dengan diameter sampai kira – kira 2 mm dalam 24 jam (Jawetz, 2008).

Pengobatan yang dilakukan selama ini dengan menggunakan

Trimetoprim sulfametoksazol yang mekanisme kerjanya dengan menghambat sintesis asam folat. Pada penggunaan trimetoprim – sulfametoksazol dapat menyebabkan timbulnya megaloblastosis, leucopenia, atau trombositopenia, Kerusakan permanen fungsi ginjal pada pasien yang menderita penyakit ginjal, dan penurunan bersihan kreatinin secara reversible pada pasien yang fungsi ginjalnya normal (Asromedika, 2011).

Oleh karena itu, diperlukan adanya alternatif pengobatan dengan pemakaian tanaman berkhasiat obat yang memiliki sifat bakteriostatik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu. Alternatif obat yang digunakan adalah Buah Apel.

Apel selain popular dikonsumsi juga memiliki nilai gizi tinggi yang sangat bermanfaat bagi kesehatan, salah satu jenis buah apel di Indonesia adalah apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill). Apel manalagi dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia karena rasanya manis, mudah didapat, dan harganya terjangkau.

Nutrisi penting dari apel sebagian besar berada dilapisan bawah kulit buahnya (Setiawan dkk, 2013). Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol antara lain *cathecin*, *quercitin*, *phloridzin*, dan *asam klorogenik* (Jannata dkk., 2014). Senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak membran sel, menghancurkan substrat, dan mengganggu fungsi enzim bakteri. Hal yang sama juga disampaikan oleh Setiawan dkk., (2013) bahwa apel memiliki khasiat sebagai antiradang, laksatif, astringen, antidiare, dan antioksidan.

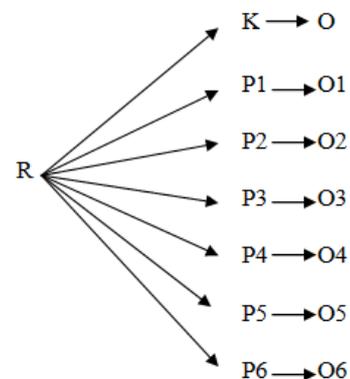
Berdasarkan penelitian Alberto dan Nadra (2006) menyatakan bahwa Ekstrak Kulit apel memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Menurut Jannata dkk.,(2014) dalam penelitiannya dengan menggunakan ekstrak kulit apel manalagi terhadap *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa ekstrak kulit apel manalagi mampu menghambat pertumbuhan dari *S.*

mutans pada seluruh konsentrasi yaitu 100%, 50%, dan 25%.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti ingin mengetahui perbedaan pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* pada berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakannya perasan kulit apel manalagi sebagai obat herbal untuk mengobati disentri

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian sebagai berikut:



Keterangan:
 R = Random
 K = Kontrol
 P= Perlakuan

Penelitian dilakukan di
 Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3
 Analis Kesehatan Fakultas Ilmu

Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.
Pembuatan Perasan kulit apel manalagi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya. Bakteri *Shigella dysenteriae* berasal dari biakan murni yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Kampus A Unair Surabaya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kulit apel manalagi, biakan murni bakteri *Shigella dysenteriae*, media *Nutrient Agar Plate* (NAP), media *Mac Conkey Agar* (MCA), media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), Barium Chlorida (BaCl_2), Asam Sulfat (H_2SO_4), Pz steril, NaOH, HCl dan aquadest steril.

Pembuatan perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) diawali dengan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) ditimbang sebanyak 500 gram, dicuci kulitnya sampai bersih. Kemudian diblender, setelah itu kulit diperas disaring dengan kain kasa steril. Hasil perasan kemudian disentrifuge kembali sehingga didapatkan perasan yang

benar – benar jernih. Apabila masih keruh, sentrifus kembali cairan hingga jernih sehingga didapatkan konsentrasi 100%.

Pembuatan perasan kulit apel manalagi dalam berbagai konsentrasi menggunakan metode *serial dilution*. Sediaan perasan konsentrasi 100% tanpa dicampur dengan Pz steril. Sediaan perasan 50% dilakukan dengan mengambil 1 ml konsentrasi 100% dan ditambahkan 1ml Pz steril kemudian homogenkan. Sediaan perasan 25% dilakukan dengan mengambil 1 ml konsentrasi 50% dan ditambahkan 1ml Pz steril kemudian homogenkan. Sediaan perasan 12,5% dilakukan dengan mengambil 1 ml konsentrasi 25% dan ditambahkan 1ml Pz steril kemudian homogenkan. Sediaan perasan 6,25% dilakukan dengan mengambil 1 ml konsentrasi 12,5% dan ditambahkan 1ml Pz steril kemudian homogenkan. Sediaan perasan 3,125% dilakukan dengan mengambil 1 ml konsentrasi 12,5% dan ditambahkan 1ml Pz steril kemudian homogenkan.

Pembuatan suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* diawali dengan Pz steril dipipet \pm sebanyak 2 ml dan

dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian biakan murni bakteri *Shigella dysentriae* diambil sebanyak 1 mata ose lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi Pz steril. Tabung reaksi tersebut dihomogenkan dan dibandingkan tingkat kekeruhannya dengan standart *Mac Farland I* yang sudah dibuat. Apabila didapat kekeruhan suspensi bakteri *Shigella dysentriae* yang melebihi standart *Mac Farland I* maka perlu ditambahkan Pz steril. Tapi jika kekeruhan kurang dari standart *Mac Farland I* maka perlu ditambahkan dengan biakan bakteri *Shigella dysentriae*. Dilakukan terus menerus sampai sesuai dengan standart *Mac Farland I*. Setelah kekeruhan suspensi bakteri *Shigella dysentriae* sama dengan standart *Mac Farland I* dimana setara dengan jumlah bakteri 3×10^8 CFU/ml kemudian dibuat jumlah bakteri 10^3 CFU/ml yang akan digunakan dalam pemeriksaan sampel dengan pengenceran menggunakan Pz steril sampai didapatkan jumlah bakteri 3×10^3 CFU/ml.

Pemeriksaan Sampel pada hari pertama diawali dengan persiapan pipet ukur 1 ml, pembakar spirtus,

korek api, dan inkubator. Bahan yang digunakan adalah suspensi bakteri *Shigella dysentriae* dan perasan kulit apel manalagi. Masing-masing tabung diberi label sesuai dengan konsentrasinya, yaitu 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25; 3,125%; dan 0% atau kontrol. Suspensi bakteri dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 1 ml perasan kulit apel manalagi konsentrasi 100% secara aseptik. Homogenkan agar suspensi tercampur sempurna. Melakukan hal yang sama pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, 6,25%; 3,125%; dan 0% atau kontrol. Tujuan hal ini dilakukan agar perbandingan suspensi bakteri dan perasan sama, yaitu 1 : 1. Lalu tutup kembali tabung dengan kapas, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pada pemeriksaan hari kedua diawali dengan media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan berbagai macam konsentrasi perasan kulit apel manalagi yang berisi bakteri dipersiapkan. Selanjutnya dilakukan pengamatan pada masing – masing tabung, apakah terjadi kekeruhan atau tidak. Setelah itu, diambil

masing-masing konsentrasi perasan kulit apel manalagi dan menguji kembali ke media padat *Mac Conkey Agar* (MCA) dengan tujuan memastikan apakah bakteri tersebut adalah *Shigella dysenteriae*. Langkahnya diambil 1 mata ose bakteri pada konsentrasi 100% lalu ditanam ke media *Mac Conkey Agar* (MCA) dengan cara menggoreskannya dipermukaan media. Lakukan kembali pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, 6,25%; 3,125%; dan 0% atau kontrol dan tanam pada masing – masing media *Mac Conkey Agar* (MCA). Lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pada hari ketiga adalah penghitungan jumlah koloni pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) yang terdapat pertumbuhan bakteri dan dicatat dalam tabel tabulasi. Setelah itu, koloni yang tumbuh ditanam pada media TSIA untuk memastikan kuman tersebut adalah bakteri *Shigella dysenteriae*.

Pada hari keempat hasil penanaman dari media TSIA diamati dengan pembacaan leereng, dasar, gas dan H₂S. Apabila lereng

berwarna merah (alkali), dasar berwarna kuning (acid), gas (-), dan H₂S (-). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah *Shigella dysenteriae*.

Data hasil penelitian yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji ANOVA dengan tingkat kesalahan 5% (0,05).

HASIL

Hasil penelitian perbedaan pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* pada berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbedaan Pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* pada berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro*.

NO	Kode sampel/ pengulangan	Jumlah Koloni Bakteri yang Tumbuh di Media <i>Mac Conkey Agar</i> (MCA) per 1 mata ose (CFU/ml)						
		0%	3,125 %	6,25 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
1	A1	29	28	25	20	0	0	0
2	A2	18	16	17	15	0	0	0
3	A3	9	7	8	9	4	0	0
4	A4	19	13	18	17	4	0	0
Jumlah		75	64	68	61	8	0	0
Rata - rata		18,75	16	17	15,25	2	0	0
SD		8,18	8,83	6,97	4,64	2,3	0	0

Keterangan :

- A1 : Pengulangan 1
- A2 : Pengulangan 2
- A3 : Pengulangan 3
- A4 : Pengulangan 4
- SD : Standar deviasi

Berdasarkan Tabel 1. diatas menunjukkan bahwa nilai rata-rata pertumbuhan koloni paling tinggi pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 18,75 CFU/1 mata ose. Kemudian perlakuan konsentrasi terendah 6,25% yaitu sebesar 17 CFU/1 mata ose. Lalu perlakuan pada konsentrasi 3,125% yaitu sebesar 17 CFU/1 mata ose. Selanjutnya perlakuan konsentrasi 12,5% yaitu sebesar 15,25 CFU/1 mata ose. Perlakuan konsentrasi 25% yaitu sebesar 2 CFU/1 mata ose. Sedangkan pada konsentrasi 50% dan 100% tidak ada pertumbuhan sama sekali yaitu sebesar 0 CFU/1 mata ose.

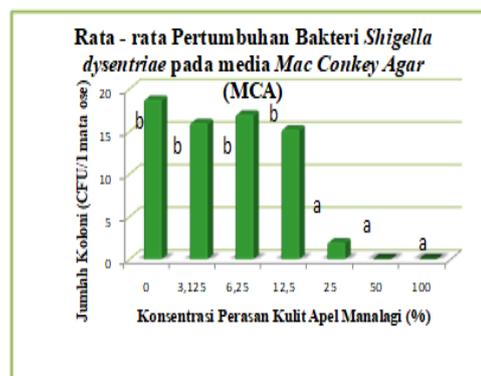
Hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi perasan kulit apel manalagi maka pertumbuhan *S. dysenteriae* tidak terjadi. Sehingga pada konsentrasi 50% dan 100% dikatakan sebagai daya bunuh yang paling efektif untuk *S. dysenteriae*.

Berdasarkan hasil pertumbuhan koloni tersebut di atas kemudian diuji menggunakan uji ANOVA dengan taraf ketelitian 5%. Dari hasil uji didapatkan taraf signifikan anova (p) 0,000 dan hasil uji homogenitas didapatkan taraf signifikan 0,138

dimana lebih besar dari 0,05, maka data tersebut memiliki varian sama atau homogen dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD untuk melihat ada tidaknya perbedaan.

Berdasarkan hasil uji anova pada tabel 4,2 menunjukkan signifikansi (p) sebesar 0,000, yang berarti p lebih kecil dari $\alpha = 0,05$, maka hipotesis diterima, jadi ada perbedaan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro*.

Dari hasil tersebut, untuk menguji sejauh mana perbedaan antar perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*, dilakukan dengan uji Tukey HSD. Adapun dari hasil uji Tukey HSD dilihat pada Grafik 1.



Grafik 1. Perbedaan Pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* pada berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro*.

Berdasarkan Grafik 1 di atas didapatkan perbedaan yang nyata pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* antar perlakuan, yaitu konsentrasi 100%, 50%, dan 25% dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%.

Pada konsentrasi 100%, 50%, dan 25% ditandai dengan huruf a, sedangkan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0% ditandai dengan huruf b. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100% berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 50% dan 25%. Konsentrasi 50% berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 100% dan 25%. Konsentrasi 25% berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 100% dan 50%.

Pada konsentrasi 12,5% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 100%; 50% dan 25%. Pada konsentrasi 6,25% tidak berbeda

nyata dengan konsentrasi 12,5%; 3,125%; dan 0%. Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 100%; 50% dan 25%. Pada konsentrasi 3,125% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 100%; 50% dan 25%. Pada konsentrasi 0% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 6,25%; 3,125%; dan 12,5%. Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 100%; 50% dan 25%.

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* menunjukkan bahwa perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara optimum pada konsentrasi 25%. Konsentrasi 100% dan 50% tidak dapat dikatakan menghambat tetapi dapat dikatakan sebagai kriteria efektif untuk membunuh, dikarenakan tidak ada pertumbuhan bakteri sedikitpun.

Konsentrasi 100% dan 50% memberikan efek yang optimum untuk membunuh pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Dan

untuk efektifitas terkecil kemampuan perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 25%. Hal ini karena pada konsentrasi 25% memiliki senyawa aktif yang cukup banyak dibandingkan dengan konsentrasi dibawahnya. Kandungan senyawa dalam kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) meliputi *ellagic acid*, *chlorogenic acid*, *caffeic acid*, *tannic acid*, *flavonoid*, *quercetin* (golongan *flafonol*), *catechin*, *epicatechin* (golongan *proanthocyanidin*), *tannin*, vitamin C, serat larut (terutama *pectin*), kalium, dan zink (Setiawan dkk, 2013).

Pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dapat terganggu disebabkan adanya suatu senyawa fenol yang terkandung dalam kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill). Kondisi asam oleh adanya fenol yang terkandung dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Kandungan dalam kulit apel manalagi yang menjadi zat antibakteri adalah polifenol. Kulit apel mengandung beberapa fitokimia

turunan polifenol, antara lain katekin, kuersetin, *phloridzin*, dan asam klorogenik (Charde dan Chakole, 2011).

Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan flavonoid. Sifat antibakteri pada katekin disebabkan oleh adanya gugus pyrigallool dan gugus galloil. Katekin menghambat bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri. Kerusakan tersebut dapat mencegah masuknya nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi akibatnya bakteri akan terhambat pertumbuhannya dan mengalami kematian (Rustanti, 2009).

Kuersetin juga salah satu zat aktif golongan flavonoid. Aktivitas antibakteri kuersetin mengikat sub unit GyrB DNA girase dan menghambat aktivitas enzim ATPase. Dalam penelitian Mirzoeva dalam Jannata (2014) menunjukkan bahwa kuersetin menyebabkan peningkatan permeabilitas membran bakteri. Kuersetin juga secara signifikan menghambat motilitas bakteri (Chusnie dan Lamb, 2005).

Phloridzin termasuk dalam kelompok *dihydrochalcones*, sejenis flavonoid. Flavonoid merusak dinding sel bakteri melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid, sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri (Gunawan, 2009).

Asam klorogenik juga mempunyai sifat antibakteri. Asam klorogenik menghambat enzim tertentu yang terlibat dalam sintesis asam lemak bakteri. Asam klorogenik juga secara signifikan meningkatkan permeabilitas membran plasma bakteri yang mengakibatkan kebocoran isi sitoplasma termasuk nukleotida (Karunanindhi *et.al.*, 2012).

Chlorhexidine mengandung fenol yang memberikan efek bakteriostatik pada kadar 0,2-1%, bersifat bakterisida pada kadar 0,4-1,6%, dan bersifat fungisidal pada kadar diatas 1,3%. Kandungan bahan dasar *chlorine* merupakan desinfektan tingkat tinggi karena sangat aktif pada semua bakteri, virus, fungi, parasit, dan beberapa spora (Agusmawanti, 2007).

Kulit apel banyak mengandung senyawa flavonoid yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar pada dinding sel bakteri (Dewi, 2010). Senyawa antibakteri yang masuk tersebut akan mengakibatkan tekanan osmotik di dalam sel lebih besar, sehingga menyebabkan lisis (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perasan kulit apel manalagi berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae*.

Konsentrasi yang efektif dalam menekan pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 50% dan 100%. Sedangkan konsentrasi yang efektif menghambat pertumbuhan koloni pada konsentrasi 25% dengan pertumbuhan bakteri terkecil rata – rata sebesar 2 koloni/1 mata ose.

Beberapa saran yang mungkin bermanfaat bagi peneliti selanjutnya yaitu perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan kulit

apel manalagi dalam menghambat pertumbuhan mikroflora lain yang patogen terhadap manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzadi MA. Genetic and biochemical properties of apples that affect storability and nutritional value. Introductory Paper at the Faculty of Landscape Planning, Horticulture and Agricultural Science. Swedish: SLU; 2012. p. 3
- Agusmawanti, P. “Perbandingan Daya Antibakteri Kumur Rebusan Gambir (*Uncasia gambir*) dengan *Chlorhexidine* 0,2% Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Saliva”. *J. Maj. Ilmiah Sultan Agung*. Vol. 49 (2007) 1-9.
- Aini MN. 2015, *Aneka Buah Berkhasiat Obat*. Yogyakarta : Real Books
- Asromedika, 2011. *Trimetoprim-Sulfametoksazol (Cotrimoxazole)*. <http://asromedika.blogspot.co.id/2011/08/Trimetoprim-Sulfametoksazol.html?m=1>
- Charde, M. S., Ahmed A., & Chakole, R. D. “Apple Phytochemicals for Human Benefits”. *Int. J. Pharm. Res.* Vol. 1 (2) (2011) 1-8.
- Chusnie, T. P. T. & Lamb, A. J. “Antimicrobial Activity of Flavonoid”. *Int. J. Antimicrob. Agent*. Vol. 26 (2005) 343-356.
- Depkes, 2010, *Pedoman Pemberantasan Penyakit Diare. Menteri Kesehatan Republik Indonesia*. Diakses 28 April 2016 Available from : <http://www.depkes.go.id/downloads/SK1216-01.pdf>
- Depkes, 2011, *Profil Kesehatan*. Diakses 28 April 2016, <http://www.depkes.go.id/folder/view/01/structure-publikasi-pusdatim-profil-kesehatan.html>
- Dewi, F. K. “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Molinda citrifolia*, *Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar”. Skripsi. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret (2010)
- Djajaningrat H & Misnadiarly. 2014. *Mikrobiologi untuk klinik dan Laboratorium*. Jakarta : PT Rineka Cipta
- Giomaro G, Karioti A, Bilia AR, et al. Polyphenols profile and antioxidant activity of skin and pulp of a rare apple from marche region (italy). *Chemistry Central Journal*; 2014;8:1
- Gunawan, I.W.A. “Potensi Buah Pare (*Momordica Charantia L*) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*”. Skripsi. Denpasar: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mahasaraswati (2009).

- Haryadi, 2012, *Disentri basiler*. Diakses 25 April 2016, http://digilib.ump.ac.id/files/dis_k1/2/jhptump-a-E.har-76-1-babi.pdf
- Heneman K, Zidenberg-Cherr S. Some facts about flavonols. Nutrition and Health Info-Sheet for Health Professionals: 2008: 1
- Hidayat, A.Aziz Alimul. 2010. *Metode Penelitian Kesehatan*. Health Books Publishing, Surabaya
- Jannata RH, Gunadi A, Ermawati T. Daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. E-Jurnal Pustaka Kesehatan; 2014;2: 24,6
- Jawetz, E, Melnick, L.L, Adelburg, E. A.2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Karunanindhi, A., Thomas, R., Belkum, A., & Neela, V. “*In vitro* anti-bacterial and antibiofilm activities of chlorogenic acid against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* including the trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX) resistant strain”. *BioMed Research Int.* Vol. 2013 (2012) 1-24.
- Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. Color atlas of medical microbiology. New York: Thieme; 2005. p. 363
- Kementerian Kesehatan, 2013. *Profil Kesehatan Tahun 2012*. Diakses 30 April 2016, http://www.depkes.go.id/resources/doemnload/profil/PROFIL_KES_PROVINSI_2012/15_Profil_Kes.Prov.JawaTimur_2012.pdf
- Kusmiyati dan Agustini, N. “Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*”. *Biodiversitas* Vol. 8 (1) (2007) 48-53.
- Nathania, Devi . 2008. *Shigella dysenteriae*. Hal 1-2, diakses 30 april 2016, <http://mikrobia.files.wordpress.com/>
- Puspitasari, 2012. Muthuswamy, S., dan Rupasinghe, H. P. V. “Fruit phenolics as natural antimicrobial agents: Selective antimicrobial activity of catechin, chlorogenic acid and phloridzin”. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. Vol.5 (3&4) (2007) 81-85
- Redha. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian*: 2010;9: 197
- Rustanti, E. “Uji Efektivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Katekin Hasil Isolasi dari Daun Teh (*Camellia sinensis* L. var. *Assamica*”. Skripsi. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Malang (2009).

- Setiawan D & Felix A. 2013, *Fakta Ilmiah Buah dan Sayur*, Jakarta : Penebar Swadaya Grup
- Soedarto. 2009. *Penyakit Menular Indonesia*. Jakarta : CV Sagung Seto
- Sufrida Y, Irlansyah, Edi J, Mufatis W. *Khasiat dan manfaat apel*. Jakarta: Agro Media; 2007, pp. 22-30
- Sumono A, Wulan A. The use of bay leaf (*Eugenia polyantha Wight*) in dentistry. *Dental Journal*: 2008;41: 148-9
- Swastika A, 2014. *Khasiat Buah dan Sayur Tumpas Segala Penyakit*. Yogyakarta : Shira Media
- Wulandari A. Daya antibakteri ekstrak buah apel manalagi terhadap bakteri *Salmonella thyposa*. *Jurnal Healthy Science AAKMAL*: 2012;2: 1-3.