

Research Article

**ANTIBACTERIAL EFFECT OF ETHANOL EXTRACT COCOA BEANS
(Theobroma cacao) ON GROWTH IN VITRO BY *Shigella dysenteriae***

Pipiet wulandari*, Enny Suswati*, Misnawi**, Alfa Rianul***

* Fakultas Kedokteran Universitas Jember ** Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember

*** Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember

E mail: Pietwulan_2007@yahoo.co.id

ABSTRACT

Introduction: *Shigella dysenteriae* is one of the causes of gastrointestinal infections. *S. dysenteriae* is increasingly resistant to some antibiotics. One alternative to overcome this problem is the utilization of medicinal plants, one of which is chocolate (*Theobroma cacao*). Chemical content of the brown leaves are potent antibacterial catechins, tannins, and flavonoids. **Objective:** The aim of this research is to determine antibacterial effect and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ethanol extract of cacao seeds on the growth of *S. Dysenteriae*. **Method:** This type of research was quasi-experimental, posttest only control group design. Antibacterial activity of this research used diffusion well method. Samples used was colony of bacteria *S. dysenteriae*. Concentration of test solution used was 7.8: 15.6: 31.2: 62.5: 125: 250: 500; and 1000 mg / ml. Positive control used ciprofloxacin suspension and negative control used sterile distilled water. Data were then analyzed by the Kolmogorov-Smirnov normality test, followed by Linear Regression test. To determine significant differences among different concentrations, data were analyzed with Post Hoc test of multiple comparisons with Mann-Whitney method. By direct measurement, MIC was obtained with the dose of 15.6 mg / ml while statistical analysis yielded an MIC value of more than 9.01 mg / ml. Concentration of 1000 mg / ml and 500 mg / ml has equivalent capacity to positive control (ciprofloxacin suspension). **Conclusion:** Ethanol extract of cacao seeds had antibacterial effect on growth of bacteria *S. Dysenteriae* (sig = 0.000).

Keywords : cacao seeds, *Shigella dysenteriae*, antibacterial effect.

Research Article

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Shigella dysenteriae SECARA IN VITRO**

Pipiet wulandari*, Enny Suswati*, Misnawi**, Alfa Rianul***

* Fakultas Kedokteran Universitas Jember ** Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember

*** Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember

*Pietwulan_2007@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pendahuluan. Shigellosis merupakan kasus infeksi gastrointestinal yang sering terjadi di Indonesia. *S. dysenteriae* semakin resisten terhadap beberapa jenis antibiotik. Alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah pemanfaatan tanaman obat, seperti coklat (*Theobroma cacao*), mengandung katekin, tanin, dan flavonoid yang berpotensi antibakteri. **Tujuan:** untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol biji kakao terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* dan Kadar Hambat Minimalnya (KHM). **Metode:** uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Jenis penelitian adalah kuasi eksperimental dengan rancangan penelitian *Post test Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah bakteri *S. Dysenteriae*, dengan konsentrasi larutan uji : 7,8; 15,6; 31,2; 62,5; 125; 250; 500; dan 1000 mg/ml. Kontrol positif menggunakan suspensi siprofloksasin dan kontrol negatifnya aquadest steril. Data dianalisis dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*, dilanjutkan uji Regresi Linier. Data juga dianalisis dengan uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*. **Hasil:** KHM secara kuantitatif adalah pada konsentrasi 15,6 mg/ml dan secara kuantitatif diatas konsentrasi 9,01 mg/ml. Dari uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney* didapatkan konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) 1000 mg/ml dan 500 mg/ml memiliki kemampuan yang setara dengan kontrol positif (suspensi siprofloksasin). **Simpulan:** ekstrak etanol biji kakao memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. Dysenteriae* (sig = 0,000)

Kata kunci: biji coklat, *Shigella dysenteriae*, efek antibakteri.

PENDAHULUAN

Terdapat sekitar 200 juta kasus dengan 650.000 kematian pada anak-anak di bawah umur 5 tahun di dunia. Hasil penelitian yang dilakukan di beberapa rumah sakit di Indonesia dari Juni 1998 sampai dengan Nopember 1999, dari 3848 orang penderita diare, ditemukan 5% *Shigella*.¹ Prevalensi diare di Indonesia sebesar 9,0% dengan prevalensi tertinggi di Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam (18,9%) dan terendah di Provinsi DI Yogyakarta (4,2%). Menurut kelompok umur, balita menempati prevalensi tertinggi (16,7%) disusul kemudian kelompok umur 5–14 tahun (9,0%), kelompok umur 15–44 tahun (7,43%), kelompok umur 45–74 tahun (8,93%) dan kelompok umur 75 tahun ke atas (10,4%). Dengan persentase 25,2%, diare juga menjadi penyebab kematian tertinggi pada kelompok umur 29 hari – 4 tahun. Sedangkan

Research Article

menurut wilayah, prevalensi diare di pedesaan lebih tinggi (10,0%) daripada di perkotaan (7,4%).² Data Profil Kesehatan Indonesia tahun 2008 menunjukkan bahwa terdapat 15 provinsi dengan KLB diare dengan 8.443 kasus dan 209 penderita meninggal atau CFR (*Case Fatality Rate*) 2,48%. Bakteri *Shigella dysenteriae* ini dipilih karena merupakan bakteri patogen penyebab penyakit disentri atau diare yang disertai lendir atau darah.

Seiring dengan kemajuan zaman, pola penyakit yang menyerang manusia berubah. Kemampuan antibiotik menjadi berkurang karena beberapa bakteri yang semakin resisten dan beberapa virus bermutasi menjadi lebih kuat. Jumlah dan jenis mikroba juga semakin banyak dan bervariasi. Terkadang diakibatkan karena kesalahan penggunaan obat oleh manusia sendiri, mikroba-mikroba yang awalnya bisa dimusnahkan dengan obat tertentu, kini tidak lagi. Penelitian-penelitian terakhir menyatakan bahwa telah banyak penderita disentri basiler yang resisten terhadap obat untuk penyakit ini. Para peneliti melaporkan bahwa spesies *Shigella sp* di Jakarta Utara telah resisten terhadap ampisilin, trimethoprim-sulfometoksazol, kloramfenikol, dan tetrasiklin tetapi belum terjadi resistensi terhadap asam nalidiksida, siprofloksasin, dan seftriakson.³

Indonesia merupakan salah satu laboratorium tanaman obat terbesar di dunia. Sekitar 80% herbal dunia tumbuh di Indonesia. Indonesia memiliki sekitar 35 ribu jenis tumbuhan tingkat tinggi, 3500 di antaranya dilaporkan sebagai tumbuhan obat. Biji kakao akhir-akhir ini sering dikaitkan dengan fungsinya dalam bidang kesehatan. Salah satu produk yang bisa dihasilkan dari pengolahan biji kakao adalah polifenol. Polifenol dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri untuk membunuh mikroorganisme yang tidak diinginkan dalam pangan atau untuk mencegah dan menghambat pertumbuhannya.⁴ Biji kakao mengandung senyawa polifenol sebanyak 120 – 180g/kg (dalam bubuk bebas lemak).⁵ Sedangkan pada penelitian lain yang dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa polifenol biji kakao memiliki antioksidan yang mampu menekan hidrogen peroksida, melindungi lemak dari kerusakan oksidasi, bersifat antibakteri, menghambat pertumbuhan tumor dan kanker, serta dapat mengurangi penyakit-penyakit karena oksidasi *low density lipoprotein*(LDL).⁵ Proses ekstraksi biji kakao ini menggunakan pelarut etanol karena polifenol dari biji kakao bersifat polar dan relatif stabil pada kondisi larutan asam sehingga polifenol dalam biji kakao lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. Berdasarkan beberapa hasil penelitian dilaporkan bahwa etanol merupakan pelarut semipolar yang sangat baik untuk menarik senyawa golongan polifenol, fenol, glikosida, dan flavonoid yang terdapat dalam biomassa tumbuhan.⁶ Tujuan penelitian ini adalah mengetahui adanya efek antibakteri ekstrak etanol biji kakao

Research Article

(*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro* dan mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) nya.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan pada uji efek antibakteri ini adalah penelitian eksperimental semu (*Quasi Experimental Design*). Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan eksperimental sederhana (*Posttest Only Control Group Design*). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah koloni bakteri *S. aureus* yang disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland (10^8 CFU/ml) dan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Dalam rancangan penelitian ini sampel dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kontrol positif menggunakan suspensi siprofloksasin dan kontrol negatif menggunakan aquadest steril. Kelompok perlakuan menggunakan konsentrasi larutan uji 7,8; 15,6; 31,2; 62,5; 125; 250; 500; dan 1000 mg/ml. Metode yang digunakan untuk uji daya antibakteri ekstrak etanol biji kakao terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* adalah metode difusi dengan cara sumuran.

Biji kakao basah dicuci bersih lalu dijemur selama 2 hari. 6 kg biji kakao dioven selama 1 jam dengan suhu 60–100^o C untuk memudahkan proses pengepressan. Biji kakao dipisahkan dengan lemak kakao menggunakan press hidrolik dan menghasilkan bungkil kakao. Kemudian bungkil kakao direndam dengan n-hexana selama 24 jam dengan perbandingan 1:2. Larutan yang diperoleh disaring dan dipress menggunakan press hidrolik sehingga diperoleh bungkil kakao kembali. Bungkil ini direndam dengan etanol 90% selama 24 jam dengan perbandingan 1:3 sehingga dihasilkan larutan polifenol yang bercampur dengan etanol. Larutan yang diperoleh disaring dan dipress menggunakan press hidrolik. Kemudian larutan polifenol dievaporasi menggunakan evaporator selama 3,5 jam dengan suhu 60^o C dan menghasilkan ekstrak etanol cair yang sesungguhnya. Ekstrak etanol ini kemudian divakum dengan vakum desikator selama 38 jam dan menghasilkan +/- 123,37 g serbuk ekstrak etanol biji kakao.

Konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) 1000 mg/ml diperoleh dari serbuk ekstrak etanol biji kakao yang dilarutkan dalam aquades steril panas dengan perbandingan 1 : 1 (2 mg serbuk ekstrak etanol biji kakao : 2 ml aquades steril panas). Konsentrasi ekstrak etanol biji kakao 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6; 7,8 mg/ml merupakan konsentrasi ekstrak etanol biji kakao 1000 mg/ml ditambah dengan aquades dengan perbandingan tertentu (1 : 1).

Research Article

Lidi kapas steril yang telah dicelupkan ke dalam biakan cair kuman diperas pada dinding tabung kemudian diusapkan pada seluruh permukaan medium agar Mueller Hinton. Prosedur tersebut diulang 2 kali dengan memutar plate 60° , kemudian plate didiamkan 3 – 5 menit pada suhu ruangan tetapi tidak lebih dari 15 menit supaya medium benar-benar kering sebelum dibuat sumuran. Pada agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan, kemudian ke dalam sumuran tersebut diteteskan ekstrak etanol biji kakao sebanyak 100 μ l dengan beberapa konsentrasi yang telah dibuat. Kemudian suspensi siprofloksasin juga diteteskan ke dalam sumuran lain yang masih kosong sebagai kontrol positif. Aquades steril juga diteteskan ke dalam sumuran lain yang masih kosong sebagai kontrol negatif.

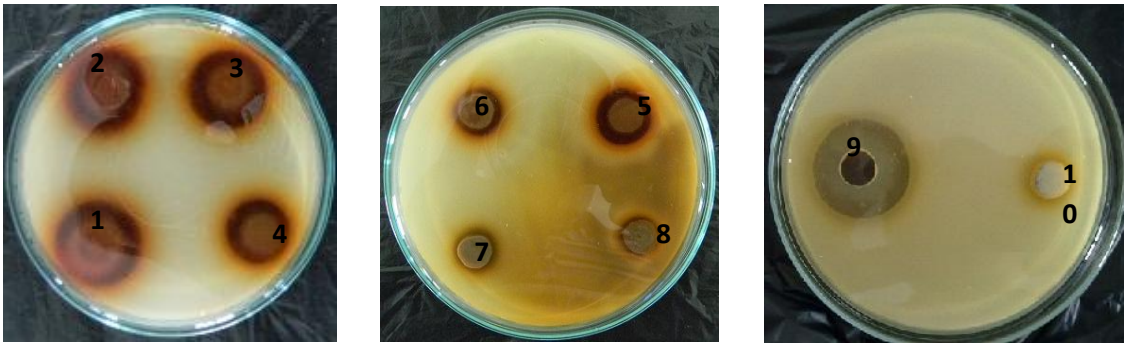
Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C, kemudian dilakukan pengamatan pada cawan petri yaitu dengan cara menghitung zona hambat pertumbuhan pada masing-masing sumuran. Perhitungan dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae* pada media Mueller Hinton dengan menggunakan jangka sorong.

Pada data yang diperoleh, dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Selanjutnya data diuji dengan uji regresi linier untuk mengetahui pengaruh antara variabel bebas (ekstrak etanol biji kakao) terhadap variabel terikat (diameter zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae*). Bentuk umum garis regresi dinyatakan dengan $Y = a + bX$. Y adalah variabel terikat dan X adalah variabel bebas. KHM secara kuantitatif didapatkan dari persamaan tersebut dan KHM kualitatif berdasarkan pengamatan pada diameter zona hambat secara visual. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan Uji *Levene*. Perbandingan lebih dari dua variabel yang tidak berpasangan dilakukan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing konsentrasi terhadap konsentrasi yang lain maupun terhadap kontrol yang ada.

HASIL

Diameter zona hambat dengan menggunakan konsentrasi 1000 (1); 500 (2); 250 (3); 125 (4); 62,5 (5); 31,2 (6); 15,6(7); 7,8 mg/ml (8); kontrol positif siprofloksasin (9) dan kontrol negatif (10) didapatkan seperti gambar 1 dan tabel 1 berikut.

Research Article

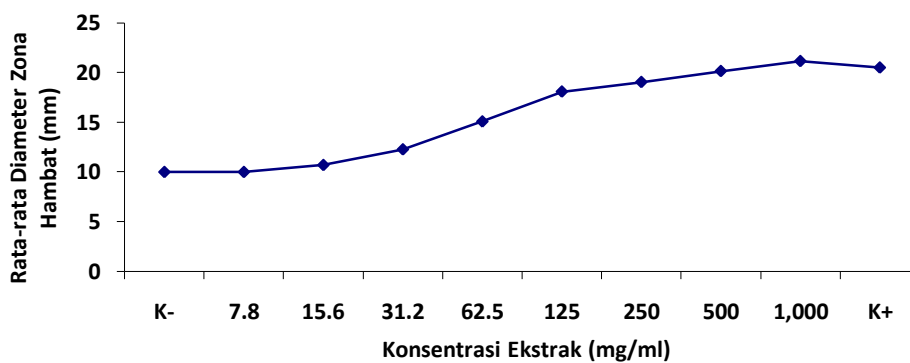


Gambar 1 Daya hambat terhadap pertumbuhan *S. Dysentriae* ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumuran

Tabel 1 Hasil pengukuran zona hambat berbagai konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *S. Dysentriae*

Serial Konsentrasi (mg/ml)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	Replikasi			
	I	II	III	
K(+)	20	21	20,45	20,48
1000	21	20.9	21.5	21.13
500	19.5	20.3	20.6	20.13
250	19.3	19	18.8	19.03
125	18.3	18.5	17.4	18.07
62,5	15.3	14.9	15	15.07
31,2	12.6	11.8	12.4	12.27
15,6	10.6	10.5	11	10.7
7,8	10	10	10	10
K(-)	10	10	10	10

10 : tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri (diameter sumuran)
 K(+) : siprofloksasin
 K(-) : aquades steril



Gambar 2 Grafik rata-rata hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan daya penghambatan pertumbuhan *S. dysentriae*

Research Article

DISKUSI

Tabel 1 memperlihatkan bahwa zona hambatan mulai terbentuk pada konsentrasi 15,6 mg/ml dengan rata-rata diameter sebesar 10,7 mm. Pada konsentrasi 1000 mg/ml didapatkan rata-rata diameter sebesar 21,13 mm. Kontrol negatif dengan aquades steril tidak didapatkan zona hambatan sedangkan kontrol positif dengan siprofloksasin didapatkan rata-rata diameter sebesar 20,48 mm. Hal ini berarti ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) mempunyai efek antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*. Selain itu, penelitian ini juga memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan kemampuan antibakteri berbagai serial konsentrasi ekstrak yang ditunjukkan dengan semakin besar diameter zona hambat mulai dari konsentrasi 7,8 mg/ml sampai dengan 1000 mg/ml. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji kakao maka semakin besar efek antibakterinya dan semakin besar pula diameter zona hambatnya.

Penentuan KHM (Kadar Hambat Minimal) dapat dilihat pada tabel 1. Berdasarkan tabel tersebut, besarnya KHM ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) pada konsentrasi 15,6 mg/ml, karena 15,6 mg/ml adalah konsentrasi terkecil yang mampu menimbulkan zona hambat di sekitar sumuran sedangkan pada konsentrasi 7,8 mg/ml tidak terbentuk zona hambat. Namun, berdasarkan persamaan yang didapat melalui uji regresi linier, besarnya KHM ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) adalah 9,01 mg/ml. Dari analisis data tersebut, dapat dinyatakan KHM kuantitatif ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) adalah 9,01 mg/ml.

Faktor yang mempengaruhi kerja zat antimikroba secara efektif terhadap organisme salah satunya ditentukan oleh zat antimikrobanya.^{7,8} Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif di dalamnya sehingga semakin besar daya antimikroba ekstrak tersebut yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat yang semakin bertambah mulai dari konsentrasi 15,6 mg/ml sampai 1000 mg/ml.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu bahwa ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) bersifat antibakteri.^{9,5} Sifat antibakteri ekstrak biji kakao disebabkan karena terdapatnya beberapa senyawa yang bersifat antibakteri seperti katekin, flavonoid, dan tanin. Katekin dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktivkan sistem enzim bakteri.⁷ Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi *DNA gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri dihambat.¹⁰ Tanin akan menginaktivasi adhesi sel mikroba yang terdapat pada permukaan sel dan enzim yang terikat pada membran sel dan polipeptida dinding sel sehingga akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel.¹¹

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menyatakan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*. Pada uji *Post Hoc*

Research Article

multiple comparisons dengan metode *Mann-Whitney* dilakukan perbandingan dengan kontrol negatif untuk menilai daya hambat secara statistik. Didapatkan pada konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; dan 15,6 mg/ml memiliki daya hambat yang bermakna secara statistik. Selain itu, pada uji ini juga dilakukan perbandingan dengan kontrol positif yang bertujuan untuk menilai besarnya potensi daya hambat antibakteri. Didapatkan pada konsentrasi 1000 mg/ml dan 500 mg/ml memiliki potensi daya hambat antibakteri yang setara apabila dibandingkan dengan kontrol positif (siprofloksasin).

Siprofloksasin yang dijadikan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini memiliki KHM sebesar 5 µg/ml (0,005 mg/ml). Sedangkan KHM ekstrak etanol biji kakao adalah > 15,6 mg/ml, hal ini menunjukkan bahwa biji kakao memiliki efek antibakteri yang lebih lemah jika dibandingkan dengan siprofloksasin sebagai antibiotik pilihan pertama terhadap infeksi yang disebabkan oleh *S. dysenteriae*. Adanya potensi kadar hambat ekstrak yang kurang bermakna dimungkinkan karena komponen dinding sel yang memiliki 3 lapisan. 3 lapisan tersebut yaitu membran luar, lapisan peptidoglikan tipis (yang mengandung asam muramat) di bagian dalam, dan membran sitoplasma.¹¹

Bahan yang berperan penting sebagai antibakteri pada biji kakao adalah katekin yang merupakan komponen dasar dari polifenol utama kakao. Total kandungan katekin pada ekstrak hanya sebesar 19,08% pada setiap satu kilogram biji kakao. Jika dilihat dari rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk antara konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) 1000 mg/ml, 500 mg/ml, dan kontrol positif (suspensi siprofloksasin 5 µg/ml) didapatkan hasil yang tidak jauh berbeda, yaitu berturut-turut 21,13 mm, 20,13 mm, dan 20,48 mm. hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan konsentrasi 1000 mg/ml dan 500 mg/ml memiliki potensi efek antibakteri yang setara apabila dibandingkan dengan kontrol positif yang berupa siprofloksasin. Mengingat bahwa mengkonsumsi coklat aman bagi semua kalangan maka dapat dikembangkan lebih lanjut alternatif pengobatan antibakteri dari bahan alam di masa mendatang, yaitu biji kakao (*Theobroma cacao*).

SIMPULAN

Research Article

Ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*. KHM ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) secara kualitatif adalah pada konsentrasi 15,6 mg/ml dan secara kuantitatif pada konsentrasi diatas 9,01 mg/ml

DAFTAR PUSTAKA

1. Sya'roni, A. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi Keempat Jilid III*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2006
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2007. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Nasional*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2007
3. Agtini, et al. *The Burden of Diarrhoea, Shigellosis, and Cholera in North Jakarta, Indonesia: Findings from 24 Months Surveillance*. Biomed Central. [serial online]. <http://biomedcentral.com>. [17 Mei 2011]. 2005
4. Ray, B. *Fundamental Food Microbiology 2nd ed*. USA: CRC Press. 2001
5. Misnawi. *Effect of Cocoa Liquor Roasting on Polyphenols Contents, Hydropobicity Astringency*. ASEAN Food Journal, 2003. 12 (2), 103-113.
6. Virganita, Jenny. *Uji Antibakteri Komponen Bioaktif Daun Lobak (Raphanus sativus L.) Terhadap Escherichia coli dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*. Surakarta: Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret. 2009
7. Volk, W. A. dan Wheeler, M. F. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Erlangga. 1993
8. Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., dan Pelezar, M. F. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. 1988
9. Nychas, G. J. E. dan C. C. Tassou. *Traditional Preservatives-oil and Spices. Di dalam: R. K. Robinson, C. A. Batt, P. D. Patel. Encyclopedia of Food Microbiology*. Vol 1. London: Academic Press. 2000
10. Gunawan, I.W.A. *Potensi Buah Pare (Momordica charantia l) sebagai Antibakteri Salmonella typhimurium*. Denpasar: Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mahasaraswati Denpasar. 2009
11. Brooks, Geo. F., Janet S. B., dan Stephen A. M. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg Edisi 23*. Cetakan I. Alih bahasa oleh: Huriawati Hartanto et al. Jakarta: EGC. 2008