

EFEKTIFITAS EKSTRAK BUAH SAWOMANILA (*ACHRAS ZAPOTAL.*) TERHADAP *SALMONELLA TYPHI* DENGAN METODE AGAR DIFUS

Hasta Handayani Idrus*, Lisa Yuniarti*, Andi Muhammad Fadilah*, Yusriani
Mangarengi*, Yani Sodikah*

*Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Muslim Indonesia

Abstrak

Latar Belakang: Demam tifoid adalah infeksi sistemik akibat *Salmonella enterica* serotype typhi (*S. typhi*). Pada tahun 2004 *S. typhi* diperkirakan menginfeksi 21,7 juta orang dan menyebabkan 217.000 kematian di seluruh dunia. Insidensi tinggi demam tifoid (>100 kasus/100.000 populasi/tahun) ditemukan di Asia Selatan, Asia Tenggara, dan Afrika Selatan, sebanyak 80% kasus berasal dari area kumuh di Bangladesh, Cina, India, Indonesia, Laos, Nepal, Pakistan, dan Vietnam. **Tujuan:** Untuk Mengetahui efektifitas ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota L.*) terhadap *Salmonella typhi* dengan metode agar difus dengan mengetahui sensitivitas *Salmonella typhi* penyebab demam tifoid terhadap buah sawo manila dalam menekan pertumbuhan bakteri dan mengukur zona hambat ekstrak buah sawo manila terhadap *Salmonella typhi* dalam menekan pertumbuhan bakteri. **Metode:** Penelitian ini adalah penelitian *true experimental post test* dengan menggunakan metode *disc diffusion* untuk melihat efektifitas ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota L.*). **Hasil:** Dari konsentrasi 100%, 200% dan 400% di dapatkan dari sawo manila yang diencerkan menggunakan DMSO bahwa pada konsentrasi 100% didapatkan zona hambat yang terbentuk dengan interpretasi resisten, 200% didapatkan zona hambat yang terbentuk dengan interpretasi intermediet dan 400% didapatkan zona hambat yang terbentuk dengan interpretasi sensitif, terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

Keyword: *Achras Zapota L, Salmonella Typhi, Agar Difus*

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Demam tifoid adalah infeksi sistemik akibat *Salmonella enterica* serotype typhi (*S. typhi*). Pada tahun 2004 *S. typhi* diperkirakan menginfeksi 21,7 juta orang dan menyebabkan 217.000 kematian di seluruh dunia. Insidensi tinggi demam tifoid (>100 kasus/100.000 populasi/tahun) ditemukan di Asia Selatan, Asia Tenggara, dan Afrika Selatan, sebanyak 80% kasus berasal dari area kumuh di

Bangladesh, Cina, India, Indonesia, Laos, Nepal, Pakistan, dan Vietnam. Insidens demam tifoid di Indonesia pada usia masing-masing adalah 0-1, 2-4, 5-15, dan rata-rata adalah 0,0/100.000, 148,7/100.000, 180,3/100.000, dan 81,7/100.000 kasus.^{1,2,3}

Prevalensi nasional Tifoid (berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan dan keluhan responden) adalah 1,60%. Sebanyak 14 provinsi mempunyai prevalensi Tifoid diatas prevalensi nasional, yaitu Nanggroe

Aceh Darussalam, Bengkulu, Jawa Barat, Jawa Tengah, Banten, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, Sulawesi Tengah, Sulawesi Selatan, Gorontalo, Papua Barat dan Papua.⁴ Di Provinsi Sulawesi Selatan pada tahun 2014 suspek penyakit typhus tercatat sebanyak 23.271 yaitu laki-laki sebanyak 11.723 dan perempuan sebanyak 11.548 sedangkan penderita demam typhoid sebanyak 16.743 penderita yaitu laki-laki sebanyak 7.925 dan perempuan sebanyak 8.818 penderita dengan insiden rate (2,07) dan (CFR=0,00%), dengan kasus yang tertinggi yaitu di Kabupaten Bulukumba (3.270 kasus), Kota Makassar (2.325 kasus) Kabupaten Enrekang (1.153 kasus) dan terendah di Kabupaten Toraja Utara (0 kasus), Kabupaten Luwu (1 kasus) dan Kabupaten Tana Toraja (19 kasus).⁵

Tumbuhan obat yang digunakan oleh masyarakat mempunyai kelebihan yaitu memiliki efek samping yang kecil dibandingkan dengan pengobatan kimiawi. Salah satunya adalah sawo manila (*Achras zapota L.*). Sawo dijadikan sebagai alternatif obat-obatan herbal. Tanaman sawo merupakan tumbuhan tropis yang cukup luas penyebarannya di Indonesia. Dalam sebuah studi penelitian yang dilakukan oleh Hening Prihatin (2013) menunjukkan bahwa buah sawo manila (*Achras zapota L.*) mampu membunuh bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan penyakit diare.⁶

Karena tingginya tingkat prevalensi dari demam tifoid, tingkat resistensi antibiotik dan sawo manila yang memiliki efektivitas pada *Salmonella typhi* yang merupakan bakteri patogen utama penyebab demam tifoid. Maka hal tersebutlah yang menjadi alasan mengapa saya memilih judul efektivitas ekstrak buah

sawo manila (*Achras zapota L.*) terhadap *Salmonella typhi* dengan metode agar difus.

Rumusan Masalah

Bagaimana efektifitas ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota L.*) terhadap *Salmonella typhi* dengan metode agar difus?

Tujuan Penelitian

Mengetahui efektifitas ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota L.*) terhadap *Salmonella typhi* dengan metode agar difus dengan:

1. Mengetahui sensitivitas *Salmonella typhi* penyebab demam tifoid terhadap buah sawo manila dalam menekan pertumbuhan bakteri
2. Mengukur zona hambat ekstrak buah sawo manila terhadap *Salmonella typhi* dalam menekan pertumbuhan bakteri.

Manfaat Penelitian

1. Bagi Institusi Kesehatan
Sebagai sumber informasi dan dapat dijadikan bahan bacaan bagi instansi kesehatan seperti puskesmas, rumah sakit, maupun dinas kesehatan pemerintah.
2. Bagi Peneliti
Sebagai pengalaman yang sangat berharga dalam rangka mengembangkan ilmu pengetahuan serta pengembangan terkhusus dalam bidang penelitian. Dan menambah pengetahuan tentang efektifitas ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota L.*) terhadap *Salmonella typhi* dengan metode agar difus.
3. Bagi Ilmu Pengetahuan
a) Penelitian ini dapat menambah wawasan masyarakat tentang efektifitas ekstrak buah sawo

manila (*Achras zapota L.*) terhadap *Salmonella typhi* dengan metode agar difus.

- b) Dapat menjadi sumber informasi dan bahan bacaan bagi peneliti berikutnya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental post test* dengan menggunakan metode *disc diffusion* untuk melihat efektivitas ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota L.*) dalam menekan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* pada medium agar difus. Metode *diffusion agar* prinsipnya adalah prinsip antibiotik terdistribusi ke dalam media. Disebut juga disk-diffusion method atau Kirby-Bauer test. Disk antibiotik diletak pada permukaan media yang telah dinokulasikan secara pertain, diinkubasi dan diamati terbentuknya zonahambat. Efektivitas antibiotic terhadap sifat mikroorganisme.

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini akan di lakukan di laboratorium Fakultas Kedokteran Laboratorium Mikrobiologi FKUMI dengan waktu penelitian pada bulan Juni – Juli 2018.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat

Penelitian ini menggunakan beberapa alat laboratorium FKUMI untuk mengekstraksi sawo manila, antara lain:

- 1) Cawan petri
- 2) Lampu spiritus
- 3) Mortar dan stamper
- 4) Ose bulat
- 5) Jangka sorong
- 6) Kertas saring
- 7) Inkubator

- 8) Pinset
- 9) Tabung reaksi
- 10) Rak tabung
- 11) Volume pipet 1 ml dan 10 ml
- 12) Labu ukur 100 ml

Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Medium *Nutrient Agar* dan Mikroba uji (*Salmonella typhi*).

Sampel dan Cara Pengambilan Penelitian Pengambilan Sampel Sawo Manila

Pengambilan sampel sawo manila dilakukan di pasar tradisional yang menyediakan sawo manila.

Proses Ekstraksi Sawo Manila

- 1) Sawo manila dicuci bersih, kemudian dilap kering
- 2) Kupas kulit sawo manila
- 3) Dilakukan pengeringan untuk mengeluarkan atau menghilangkan air dari suatu bahan dengan menggunakan sinar matahari sampai layu kemudian dimasukkan kedalam alat baik oven maupun fresh dryer. Pengeringan dilakukan untuk memperpanjang masa simpan, mengurangi penurunan mutu sebelum diolah lebih lanjut, memudahkan dalam pengangkutan
- 4) Sawo manila digiling sampai halus kemudian dimasukkan kedalam beker gelas (tabung reaksi) kemudian dituangkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:4 yaitu 1 kg bahan ke dalam 4 liter pelarut
- 5) Rendam bahan dan diamkan pada suhu kamar selama 2x24 jam dengan sesekali diaduk
- 6) Setelah 2x24 jam, saring bahan dengan menggunakan kertas saring whatman

no.40 dan pelarut yang diperoleh (yang mengandung bahan aktif) dievaporasi untuk menghilangkan sisa pelarut

- 7) Oven sisa pelarut yang masih tersisa pada suhu 40-50°C hingga bahan sudah tidak mengandung zat pelarut.

Pembuatan Medium

a. Medium Nutrient Agar

Nutrient agar ditimbang sebanyak 0,81 gram untuk volume 30 ml, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 30 ml dalam Erlenmeyer, setelah itu dipanaskan sambil diaduk hingga mendidih dan bahan larut. Kemudian, dimasukkan ke dalam 6 buah tabung reaksi masing-masing 5 ml lalu tutup mulut tabung dengan kapas lalu diberi kertas aluminium foil, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah steril media dikeluarkan lalu dimiringkan sedikit lalu dibiarkan memadat.

b. Penyiapan Bakteri Uji

1. Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan yaitu *Salmonella typhi* yang berasal dari biakan murni, masing-masing diambil sebanyak satu ose lalu diinokulasikan dengan cara goresan pada medium Nutrient agar lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

2. Pembuatan Suspensi

Masing-masing bakteri uji yang berumur 24 jam dari agar disuspensikan dengan bantuan larutan aquades. Suspensi kemudian dituang ke dalam cuvet berdiameter

13 mm. Penentuan kepadatan suspensi biakan diatur sehingga diperoleh pengenceran yang diharapkan pada panjang gelombang 580 mm yang memiliki transmittansi 25% (setara dengan kepadatan 10^8) terhadap blanko aquades dengan menggunakan alat spektrofotometer.

c. Uji Aktivitas

Pengujian dilakukan secara in vitro dengan metode difusi agar yang menggunakan paper disk berukuran 15 mm.

Medium Nutrient Agar steril didinginkan pada suhu 40°C-45°C. kemudian dituangkan suspensi bakteri uji secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 1 ml, selanjutnya dituangkan medium Nutrient Agar sebanyak 12-15 ml di atasnya, dihomogenkan dan dibiarkan memadat.

Setelah itu beberapa lembar paper disk steril masing-masing direndam selama 5 menit dalam larutan sawo manila yang sudah diencerkan, kemudian diletakkan secara aseptis dengan pinset steril pada permukaan medium dengan jarak paper disk dari pinggir cawan petri 2 cm. selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam dan diukur daerah hambatan dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan hasil sebagai berikut:

Dari konsentrasi 100%, 200% dan 400% di dapatkan dari sawo manila yang di encerkan menggunakan DMSO bahwa pada konsentrasi 100% didapatkan zona

hambat yang terbentuk dengan interpretasi resisten, 200% didapatkan zona hambat yang terbentuk dengan interpretasi intermediet dan 400% didapatkan zona hambat yang terbentuk dengan interpretasi sensitif, terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Kontrol positif digunakan antibakteri Ciprofloxacin dengan interpretasi sensitif dan control negatif digunakan Aquadest steril dengan interpretasi tidak ditemukan zona hambat.

Pada kontrol positif dengan antibiotik Ciprofloxacin didapatkan zona hambat dengan interpretasi sensitif. pada bakteri uji. Interpretasi zona hambat ditentukan berdasarkan tabel acuan interpretasi zona hambat. Zona hambat 0-15 mm dikatakan resisten, 15-19 mm intermediate dan ≥ 20 mm sensitif.

Uji efektifitas ekstrak buah Sawo Manila (*Achras zapota L.*) terhadap *Salmonella typhi* menggunakan metode *true eksperimental post test* dengan *disk diffusion* yang dilakukan di Lab Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia periode waktu mulai bulan Oktober sampai dengan November 2018.

Terbentuknya zona bening di sekitar paper disc mengindikasikan adanya hambatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella typhi*. Kemudian diameter zona bening/hambat yang terbentuk tersebut di ukur dengan menggunakan Mistar dan dinyatakan satuan meter milimeter (mm). Semakin besar/luas zona hambat yang terbentuk maka mengindikasikan bahwa semakin besar pula aktivitas anti bakteri Sawo Manila.

Diameter zona hambat yang terbentuk oleh variasi konsentrasi (100%, 200% dan 400%) sawo manila pada koloni bakteri

Salmonella typhi yang dibandingkan dengan zona hambat/bening di sekitar paper disc yang berisi antibiotik Ciprofloxacin; 500 mg.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi efektif sawo manila sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan zona hambat yang dihasilkan oleh variasi konsentrasi sawo manila.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada percobaan, sawo manila dengan konsentrasi 100% menunjukkan hasil zona hambat minimal (ZHM) dengan interpretasi resisten yakni diameter rata-rata 15 mm, sedangkan sawo manila dengan konsentrasi 200% menunjukkan hasil ZHM dengan interpretasi intermediet dengan diameter rata-rata 18 mm, dan sawo manila pada konsentrasi 400% menunjukkan hasil ZHM dengan interpretasi sensitive dengan diameter rata-rata 22,2 mm.

Sawo manila diketahui memiliki kandungan senyawa fenol berupa flavanoid (flavanol, flavon, dan turunannya) dan tannin yang memiliki aktivitas antimikroba dengan menghambat atau menunda laju pertumbuhan bakteri dan mikrofungi. Kandungan Flavanoid diduga memproduksi efek antibakterial dengan cara mendenaturasi protein lalu merusak membran sel yang ada pada bakteri dan kandungan yang terdapat dalam Tannin memproduksi efek antibakterial dengan cara menghambat metabolisme bakteri dengan merusak reseptor bakteri.^{10, 15, 16}

Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Mardiyah Mustary, M. Natsir Djide, dkk (2011), dengan menggunakan metode bioautografi bahwa hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sawo manila (*Achras*

zapota L) mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *Salmonella typhi* dengan diameter hambatan terbesar 18,68 mm pada konsentrasi 45%. Dimana kandungan tannin dan flavanoid dari sampel memiliki kemampuan mendenaturasikan protein sel mikroba sehingga dapat mengganggu keutuhan sel mikroba.²⁸

Berdasarkan penelitian Awang Zuhada. (2016), dimana pada penelitiannya bakteri uji *Streptococcus mutans* dengan metode in vitro, daya antibakteri yang tinggi pada sawo manila dikarenakan Tingginya kandungan tanin sehingga rasa sawo muda menjadi pahit dan getir, kedua zat aktif tersebut memiliki sifat menginaktifkan adesi mikroba (zat yang terdapat pada *fimbriae*), menstimulasi sel-sel fagosit yang berperan dalam respon imun seluler, sifat lipofilik yang akan merusak membran sel bakteri, dapat menghambat sintesis enzim esensial yang diproduksi bakteri dan menghancurkan membran sel, Kulit buah sawo juga memiliki kandungan senyawa seperti flavonoid.²⁹

Berdasarkan hasil penelitian Umi Nurhayati. (2015) mengenai aktivitas antimikroba ekstrak etanol kulit batang sawo manila terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumoniae* dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit batang sawo manila mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella*

pneumonia, namun memiliki aktivitas yang berbeda dimana aktivitas lebih besar pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dibandingkan pada *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi yang sama.³⁰

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan sawo manila sebagai bahan uji dengan jenis ekstrak buah sawo manila yang diketahui paling kaya akan senyawa fenol dibandingkan jenis lainnya. Peneliti sebelumnya menggunakan perasan buah sawo manila dan didapatkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri salah satunya *Salmonella typhi* dengan metode bioautografi dengan interpretasi sensitif pada konsentrasi 45%. Dikarenakan peneliti sebelumnya hanya menguji perasan buah sawo manila dan menghitung MIC-nya. Dengan begitu, peneliti ingin menguji efektivitas ekstrak buah sawo manila dengan metode yang berbeda. Maka berdasarkan hasil penelitian ini, didapatkan bahwa ekstrak buah sawo manila dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan varian konsentrasi yang digunakan dan efektif digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Serta adapun varian konsentrasi ekstrak buah sawo manila adalah berbanding lurus dengan semakin besarnya konsentrasi maka semakin besar pula zona hambat/ zona bening yang terbentuk.

TABEL

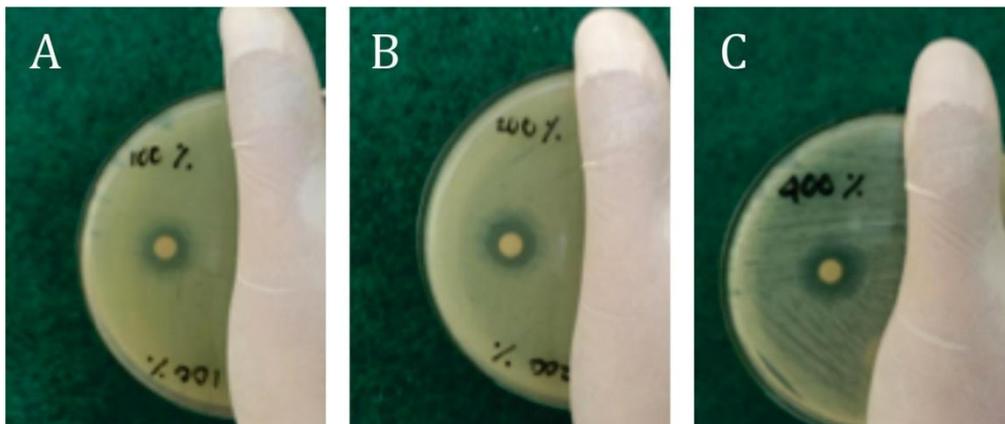
Tabel 1. Zona Hambat Minimal Sawo Manila terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan kontrol positif (Ciprofloxacin 500 mg)

Bakteri Uji	Replikasi	Konsentrasi Sawo Manila Extra Virgin			Kontrol Positif (Ciprofloxacin 500 mg)
		100%	200%	400%	
<i>Salmonella typhi</i>	1	15 mm	18 mm	22 mm	33 mm
		15 mm	18.2 mm	22,4 mm	29 mm
		15 mm	17,8 mm	22,2 mm	32 mm
		rata-rata	15 mm	18 mm	22,2 mm
	interpretasi	Resisten	Intermediet	Sensitif	Sensitif

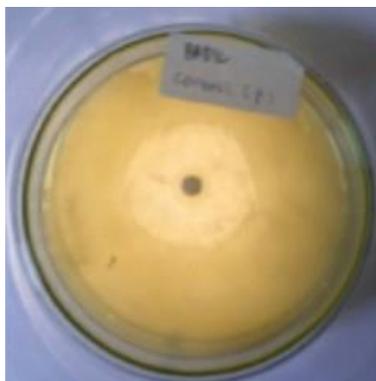
Tabel 2. Acuan Zona Hambat Minimal Mupirocin

Interpretasi	Zona Hambat Minimal
Resisten	≤ 15
Intermediet	15-19
Sensitive	≥ 20

GAMBAR



Gambar 1. Replikasi 1. (A) Zona hambat Sawo Manila yang terbentuk pada konsentrasi 100% terhadap bakteri *Salmonella typhi*. (B) Zona hambat Sawo Manila yang terbentuk pada konsentrasi 200% terhadap bakteri *Salmonella typhi*. (C) Zona hambat Sawo Manila yang terbentuk pada konsentrasi 400% terhadap bakteri *Salmonella typhi*.



Gambar 2. Kontrol Positif. Zona hambat Antibiotik (Ciprofloxacin) terhadap bakteri *Salmonella typhi*.



Gambar 3. Kontrol Negatif. Zona hambat Aquadest Steril terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- 1) Sawo manila dapat menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* pada konsentrasi 100%, 200%, dan 400%
- 2) Zona hambat minimal (ZHM) bersifat resisten terhadap bakteri *Salmonella typhi* pada konsentrasi 100% (15 mm), sedangkan Zona hambat minimal (ZHM) bersifat intermediet terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 200% (18 mm) dan Zona hambat minimal (ZHM) bersifat sensitif terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 400% (22,2 mm).
- 3) Zona hambat minimal (ZHM) sawo manila terhadap bakteri *Salmonella typhi* lebih kecil daripada zona hambat minimal (ZHM) antibiotik ciprofloxacin sebagai kontrol positif

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut efektivitas sawo manila jenis lainnya sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*.
2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai kandungan sawo manila dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*.
3. Perlu dilakukan uji aktivitas sawo manila dengan menggunakan metode pengukuran aktivitas antibakteri yang lain, seperti metodesumur, dll.

UCAPAN TERIMA KASIH

This study is funded by the directorate general of resources for science technology and higher education of the republic of Indonesia

DAFTAR PUSTAKA

1. Crump JA, Luby SP, Mintz ED. The global burden of typhoid fever. Bull WHO 2004; 82: 346-53.
2. Ochiai RL, Acosta CJ, Danavaro-Holliday MC, Galindo CM, von Seidlein L, Clemens JD, dkk. A study of typhoid fever in five Asian countries: disease burden and implications for controls. Bull WHO 2008; 86: 260-8.
3. Kothari A, Pruthi A, Chugh TD. The burden of enteric fever. J Infect Dev Ctries 2008; 2: 253-9.
4. Riset Kesehatan Dasar. Data demam tifoid. Kementerian Kesehatan RI 2007.
5. Syahrir, Agusyanti, Nurmiyati, Ernawati P, Gasang. Profil Kesehatan Sulawesi Selatan 2014; 32
6. Mukhriani, Nurlina, Fajrul FB. Uji Aktivitas Antimikroba dan Identifikasi Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras Zapota L.*) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen Dengan Metode Difusi Agar. 2014.
7. Typhoid fever [First Consult] Trupti Patel, MD, Joseph E. Scherger, MD, MPH, Kathleen M. O'Hanlon, MD, Steven M. Opal, MD, Arthur Y. Kim, MD, Richard L. Yap, MD
8. Morton, J. 1987. Sapodilla, Fruits of Warm Climates. FL, Miami. pp. 393-398.
9. Dalimartha, S. 2006. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Puspa Swara, Jakarta. 77
10. Arsyad, Ayu RA. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Buah Sawo (*Achras zapota L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. 2016

11. Sandhar HK, Kumar B, Prasher S, Tiwari P, Salhan M, Sharma P. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011; 1(1): 25-41.
12. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World Journal*. 2013; 2013: 162750.
13. Procházková D, Bousová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 2011; 82(4): 513-23.
14. Malešev D, Kunti V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *J Serb Chem Soc*. 2007; 72(10): 921-39.
15. Gulfraz M, Imran M, Khadam S. A comparative study of antimicrobial and antioxidant activities of garlic (*Allium sativum* L.) extracts in various localities in Pakistan. *Afr J Plant Sci*. [serial online] 2014 Feb 7 [Cited 2016 Mei 11]; 8: [298-306]. Available from: URL: http://www.academicjournals.org/articleee/article1403521690_Gulfraz%20et%20al.pdf
16. Hagerman A. *Condensed Tannin Structural Chemistry*. Oxford: Department of Chemistry and Biochemistry; 2002. 45056.
17. Jawetz E. *Medical Mikrobiologi* 24th ed. USA: Mc Graw hill, 2009. 223-36P
18. Yuswananda N. Identifikasi bakteri *Salmonella sp* pada makanan jajanan di masjid fathullah ciputat tahun 2015 [skripsi] Tangerang Selatan: Universitas Islam Negeri Jakarta; 2015.
19. Uji Kepekaan *Salmonella typhi* Menggunakan Media *Mueller Hinton Agar* dan *Nutrient Agar* dengan Antibiotik *ampicillin*, *ciprofloxacin* dan *trimethoprim-sulfamethoxazole* ; 2015. Semarang
20. Jawetz, Melnick, Adelbergs. *Mikrobiologi kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika; 2005.
21. Al-ani I, Zimmerman S, Reichling J, Wink M. Pharmacological synergism of bee and plant secondary metabolites against multi-drugs resistant microbial pathogens. *International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*. 2015; 22(2): 245-55.
22. Koneman EW. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. Edisi ke-6. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
23. MR Oggioni, JR Coelho, L Furi, DR Knigh, Viti C, Orefici G, et al. Significant differences characterise the correlation coefficients between biocide and antibiotic susceptibility profiles in *Staphylococcus aureus*. *Curr Pharm Des*. 2015; 21(16): 2054-7.
24. Sennang N, Wildena, Benny R. Methicilin resistant *Staphylococcus aureus*, antimicrobial susceptibility laboratory test. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 2010; 17(1): 5-8.
25. Khopkar, S. M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
26. Underwood, A. L dan Day A. R. 1990. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Kelima*. Penerbit Erlangga. Jakarta.

27. Antimicrobial Resistance Learning Site. Antimicrobial Definition. Available at <http://amrls.cvm.msu.edu/pharmacology/antimicrobials/antimicrobials-an-introduction>. Access at 2nd February 2018.
28. Mardiyah Mustary, M.Natsir Djide, Ilham Mahmud, Nursiah Hasyim. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT-Bioautografi Perasan Buah Sawo Manila (*Achras Zapota* Link) Terhadap Bakteri Uji *Salmonella Thyposa* [skripsi] Makassar: Universitas Hasanuddin; 2011.
28. Awang Zuhada. Efektifitas Ekstrak Etanol Kulit Sawo Manila (*Achras zapota*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Streptococcus mutans* (kajian In Vitro) [skripsi] Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2016.
29. Umi Nurhayati. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Sawo Manila (*Manilkara achras*) Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Klebsiella pneumonia* Serta Bioautografi [skripsi] Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2015.

