

UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK *Allium sativum* Linn TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* SECARA IN VITRO

Mustamin

Analisis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Kaltim, Jl. Kurnia Makmur No.64

Abstract

Traditional medicine is still one of the main treatment option for the people of Indonesia. The use of materials in the form of plants considered to be safer than treatment with drugs Garlic is one of the herbs that are believed to have efficacy as antibiotics. The purpose of this study to determine whether garlic extract effectively inhibited the growth of *Escherichia coli* bacteria in vitro. This type of research is true experiment research design posttest only control group. Samples were taken from varieties of garlic extract Lumbu yellow and white Lumbu obtained by extraction maceration. Antibacterial activity test performed by the agar diffusion method on the extract concentration of 10%, 20%, 40%, 60%. 80%, 100% with 5 repetitions. The data obtained were processed with statistical test Pearson correlation. These results indicate that garlic extract can form a zone of inhibition at concentrations of 80% and 100% in the two varieties, with a value of less than the diameter of inhibition zone of positive control (Ampicillin) so relatively resistant.

Keywords: garlic extract, antibacterials, *Escherichia coli*

Abstrak

Pengobatan tradisional masih merupakan salah satu pilihan pengobatan utama bagi masyarakat Indonesia. Penggunaan bahan-bahan berupa tumbuhan dianggap lebih aman dibanding terapi dengan obat-obatan Bawang putih merupakan salah satu tumbuhan yang dipercaya memiliki khasiat sebagai antibiotik. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui apakah ekstrak bawang putih efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara invitro. Jenis penelitian ini adalah *true experiment* dengan desain penelitian *posttest only control group*. Sampel penelitian ini adalah ekstrak bawang putih dari varietas lumbu kuning dan lumbu putih yang diperoleh dengan ekstraksi maserasi. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar pada konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 40%, 60%. 80%, 100% dengan 5 kali pengulangan. Data yang diperoleh diolah dengan uji statistik *correlation pearson*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih dapat membentuk zona hambat pada konsentrasi 80% dan 100% pada kedua varietas, dengan nilai kurang dari diameter zona hambat kontrol positif (Ampicillin) sehingga tergolong resisten.

Kata Kunci : Ekstrak bawang putih, Antibakteri, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang banyak diderita masyarakat di Indonesia sejak dulu, diantaranya infeksi usus. Diare adalah salah satu gejala klinis dari gangguan pencernaan yang ditandai dengan bertambahnya frekuensi defekasi lebih dari biasanya disertai dengan perubahan bentuk dan

konsistensi feses (Ajizah, 2004)

Data kesakitan Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur menunjukkan bahwa penderita penyakit infeksi dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Data Dinas Kesehatan dari tahun 2004 - 2007 menyebutkan bahwa pada tahun 2004 penderita diare yang dilaporkan sebanyak 22.514, pada tahun 2005

sebanyak 30.096, pada tahun 2006 terdapat 32.609, dan pada tahun 2007 sebanyak 35.763 penderita (Laporan Tahunan Kesakitan DinKes Prov.Kaltim, 2007).

Salah satu penyebab terjadinya infeksi usus adalah bakteri, diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella sp.*, *Campylobacter*, dan *Escherichia coli* (Brooks, 1996). *Escherichia coli* merupakan anggota flora normal usus. Kadang-kadang ditemukan juga pada saluran pernafasan dan saluran perkemihan. Dari segi pengobatan bakteri ini patut dicermati karena memiliki mekanisme resistensi. Resistensi bakteri terhadap antibiotik mempunyai arti klinis yang penting. Suatu bakteri yang awalnya peka terhadap suatu antibiotik, setelah beberapa tahun kemudian dapat resisten, dan berakibat pada sulitnya proses pengobatan karena sulitnya memperoleh antibiotik yang dapat membasmi bakteri tersebut (Jawetz, 2003)

Antibiotik jenis *penicillin*, *cephalosporin*, *monobactam* dan *carbapenem* merupakan antibiotik golongan betalaktam, karena memiliki cincin beta-laktam pada strukturnya. Semua antibiotik jenis beta-laktam bersifat bakteriosidal. Mekanismenya adalah dengan cara menyatu pada *penicillin-binding proteins* (PBPs), sehingga membuatnya tidak aktif. Proses inaktivasi ini mencegah PBPs menyatu dengan *peptidoglycan*, mengakibatkan dinding sel menjadi lemah, sehingga dinding sel bakteri pecah (Willey dkk, 2008) Produksi dari enzim beta-laktamase adalah

METODE

Jenis penelitian yang

penyebab utama terjadinya resistensi terhadap antibiotik golongan beta-laktam. Enzim beta-laktamase memutus cincin amida pada cincin beta-laktam, sehingga mengakibatkan antibiotik menjadi tidak aktif (Farmer dkk, 2007). Sejak pertama ditemukan pada tahun 1983 hingga sekarang, angka kejadian infeksi oleh bakteri penghasil ESBL (*Extended Spectrum β -lactamase*) semakin meningkat di seluruh dunia (Tumbarello, 2010)

Banyaknya kejadian resistensi bakteri terhadap antibiotika mendorong adanya penelitian mengenai potensi tumbuhan sebagai antibiotik alami. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan obat alami adalah bawang putih. Dalam penelitian invitro perasan bawang putih sensitif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 40%. (Sulisyani, 2008). Menurut Penelitian Suharti (2004) serbuk bawang putih konsentrasi 5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* setara dengan tetrasiklin 100 μ g/ml. Allisin yang terdapat pada bawang putih memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan melawan beberapa spesies bakteri seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, dan *Vibrio cholerae* (Brian, 2006). Ekstrak air bawang putih dengan konsentrasi 20% memiliki aktivitas yang setara dengan 5 μ g Ampicillin terhadap *Streptococcus agalaticae*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Safithri, 2006).

digunakan dalam penelitian ini adalah metode true experiment.

Bentuk penelitian berupa desain posttest only control group design, dimana dilakukan pengukuran terhadap pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen yaitu ekstrak bawang putih dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kontrol (Notoadmojo, 2002).

Penelitian akan dilaksanakan pada April 2015. proses ekstraksi dilakukan di Akademi Farmasi Samarinda. Uji antibakteri akan dilakukan di UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Kalimantan Timur.

Populasi adalah keseluruhan objek pengamatan yang menjadi perhatian peneliti. populasi dari penelitian ini adalah umbi bawang putih (*Allium sativum Linn*). (Nohe, 2014). Sampel adalah bagian dari populasi yang dianggap mewakili karakteristik populasi. teknik

sampling yang digunakan adalah purposive sampling yaitu teknik pengambilan sampel berdasarkan pertimbangan tertentu dari peneliti. Suatu sampel diambil karena dianggap memiliki informasi yang penting bagi peneliti.

Hasil pengukuran diameter zona hambat dibandingkan dengan standar untuk memperoleh kepastian laporan. Standar ampicillin yang digunakan sebagai control positif, memiliki potensi disc 10µg dengan ketentuan resisten dengan zona hambat ≤13 mm intermediet antara 14-16 mm dan sensitif pada zona hambat ≥17 mm (NCCLS, 2007). Data yang diperoleh dari pengukuran zona bening disekitar disc obat akan dianalisa secara kuantitatif, kemudian dianalisis secara sederhana dan statistik menggunakan dengan aplikasi SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada tanggal sampai dengan di divisi Mikrobiologi Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Kaltim yang meliputi 6

perlakuan sampel dengan metode Kirby-Bauer di dapatkan data berupa zona hambat pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* pada tabel sebagai berikut:

Tabel 4.1 Diameter zona hambat ekstrak bawang putih varietas lumbu kuning

Konsentrasi ekstrak bawang putih varietas lumbu kuning (persen)	Diameter Zona Hambat (mm)					Rata-rata	Keterangan
	Pengerjaan						
	1						
100	1	0	2	1	2	11.2	Resisten
80				0	0	9.2	Resisten
60						-	Resisten
40						-	Resisten
20						-	Resisten

10			-	Resisten
Kontrol positif	Ampicillin	17	-	Sensitif
Kontrol Negatif	Aquadest	0	-	Resisten

Sumber : Data Primer

Tabel 4.2 Diameter zona hambat ekstrak bawang putih varietas lumbu putih

Konsentrasi Ekstrak bawang putih Varietas lumbu putih (persen)	Diameter Zona Hambat (mm) Pengerjaan					Rata-rata	Keterangan
	0	1	2	0	0		
100	0	1	2	0	0	10.6	Resisten
80			0			8.8	Resisten
60						-	Resisten
40						-	Resisten
20						-	Resisten
10						-	Resisten
Kontrol positif	Ampicillin	17				-	Sensitif
Kontrol Negatif	Aquadest	0				-	Resisten

Dari penelitian yang dilakukan dengan 5 kali pengulangan diperoleh zona hambat pada konsentrasi 80% dan 100% pada keseluruhan percobaan. Kontrol yang digunakan adalah Ampicillin sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatif dimana diameter zona hambat yang digunakan sebagai rujukan untuk penggunaan Ampicillin adalah ≥ 17 mm dinyatakan sensitif (NCCLS, 2002). Hasil yang didapatkan pada masing-

masing kontrol yaitu 0mm untuk kontrol negatif dan 17mm untuk kontrol positif sehingga hasil penelitian ini dianggap valid.

Data yang digunakan dalam uji statistik adalah data dari rata-rata diameter pada masing-masing konsentrasi untuk mempermudah uji korelasi selanjutnya.

Data primer yang diperoleh dari hasil penelitian selanjutnya dianalisa sehingga diperoleh deskriptif data sebagai berikut:

Tabel 4.3 Deskriptif data masing-masing varietas

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Diameter Ekstrak Lumbu Kuning	6	.0	11.2	3.400	5.3051
Diameter Ekstrak Lumbu Putih	6	0	10.6	3.233	5.4013

Sumber: Data Primer

Dari data diatas didapatkan nilai maksimum zona hambat pada ekstrak bawang putih varietas lumbu kuning adalah 11.2 mm dan zona hambat pada varietas lumbu putih adalah 10.6 mm. Nilai maksimum dari data yang didapatkan adalah konsentrasi yang tidak memiliki zona hambat, digambarkan secara statistic dengan nilai 0. Standar deviasi yang

diperoleh yaitu 5.3051 untuk varietas lumbu kuning dan 5.4013 untuk varietas lumbu putih

Selanjutnya dilakukan uji normalitas data untuk kedua varietas uji yang digunakan yaitu uji normalitas Shapiro-Wilk karena data yang akan diolah berjumlah kurang dari 30 unit.

Tabel 4.4 Uji normalitas data zona hambat varietas lumbu kuning

Diameter ekstrak lumbu kuning	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	f	ig.	Statistic	f	Sig.
Konsentrasi ekstrak lumbu kuning .0	.214	4		.963	3	.798

Dari hasil uji normalitas data diameter zona pada varietas lumbu kuning didapatkan nilai probabilitas sebesar 0.798 lebih besar dari taraf kesalahan yaitu 0.05. sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal.

Tabel 4.5 Uji normalitas data zona hambat varietas lumbu putih

Diameter ekstrak lumbu putih	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	f	ig.	Statistic	f	Sig.
Konsentrasi ekstrak lumbu putih .0	.214			.963		.798

Dari hasil uji normalitas data diameter zona pada varietas lumbu

putih didapatkan nilai probabilitas sebesar 0.798 lebih besar dari taraf kesalahan yaitu 0.05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi

normal. Kemudian dilakukan pengujian lanjutan yaitu *correlation pearson*.

Tabel 4.6 Hasil korelasi ekstrak lumbu kuning

	R	R Square	Adjusted Square	R Std. Error of the Estimate
1 7 ^a	.86	.751	.689	2.9575

Setelah dilakukan pengolahan data dengan *correlation pearson* didapatkan model kesimpulan dimana nilai R (koefisien korelasi) bernilai positif sebesar 0.867. sesuai dengan tabel interpretasi korelasi (Lampiran 4) nilai ini menunjukkan adanya korelasi yang sangat kuat antara predictor yang merupakan konsentrasi ekstrak bawang putih varietas lumbu kuning, dengan diameter zona hambat. Nilai R kuadrat (Koefisien determinasi)

sebesar 0.751 yang menunjukkan pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak bawang putih varietas lumbu kuning terhadap diameter zona hambat sebesar 75.1%. sedangkan 24.9% sisanya dipengaruhi oleh variabel lain.

Adanya korelasi positif tersebut berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak bawang putih maka semakin besar pula zona hambat yang ditimbulkan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Tabel 4.7 Hasil korelasi ekstrak lumbu putih

	R	R Square	Adjusted Square	R Std. Error of the Estimate
1 .866 ^a	.866 ^a	.750	.688	2.8155

Pengolahan data yang sama dilakukan pada ekstrak bawang putih varietas lumbu putih dengan hasil R (koefisien korelasi) sebesar 0.866 sehingga dapat dinyatakan bahwa ada hubungan yang sangat kuat antara konsentrasi ekstrak bawang putih varietas lumbu putih dengan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Nilai R kuadrat (Koefisien determinasi) didapatkan sebesar 0.688 yang berarti peningkatan konsentrasi ekstrak bawang putih varietas lumbu putih memberi

pengaruh sebesar 68.8% terhadap besarnya zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan 31.2% sisanya dipengaruhi oleh variabel lain.

Hasil penelitian pada masing-masing ekstrak menunjukkan adanya zona hambat hanya berkisar pada konsentrasi 100% dan 80% pada keseluruhan pengulangan baik varietas lumbu kuning maupun varietas lumbu putih. Berbanding jauh dengan hipotesis dimana diharapkan pada konsentrasi sama dengan atau lebih

dari 40% efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang yang tidak membentuk spora yang merupakan flora normal di usus. Meskipun demikian, beberapa jenis *E. coli* dapat bersifat patogen, yaitu serotipe-serotipe yang masuk dalam golongan *E. coli* Enteropatogenik, *E. coli* Enteroinvasif, *E. coli* Enterotoksigenik dan *E. coli* Enterohemoragik.

Metode ekstraksi yang dilakukan yaitu metode maserasi dengan pelarut ethanol 90%. Setelah proses perendaman dan pengadukkan ethanol diuapkan untuk meninggalkan residu ekstrak. Penguapan dilakukan menggunakan penguapan dingin dengan alat rotatory evaporator. Hal ini bertujuan untuk menghindari kontak dengan panas yang dapat merubah zat aktif allisin menjadi bentuk yang lain

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang berumur kurang dari 24 jam dengan pertumbuhan optimal (16-18 jam). Hal ini dimaksudkan untuk menjaga kualitas strain bakteri (NCCLS, 2007)

Faktor kontaminasi dalam penelitian ini dicegah dengan sterilisasi seluruh bahan dan alat yang akan digunakan. Selain itu, kontrol sterilisasi media juga dilakukan dengan menginkubasi media steril bersamaan dengan media tanam, untuk melihat tumbuhnya koloni kontaminan yang mungkin terdapat pada media. Namun tidak ada koloni bakteri yang tumbuh sehingga media yang

digunakan tidak terkontaminasi.

Selain kontaminasi, beberapa faktor yang dipertimbangkan berpengaruh besar terhadap penelitian ini antara lain :

1. Pengulangan.

Pada penelitian ini pengulangan dilakukan dengan mengencerkan ekstrak kental, kemudian disk masing-masing pengulangan di rendam pada ekstrak yang sama, kemudian dilakukan penanaman. Hal ini menyebabkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara masing-masing pengulangan. Sebaiknya pengulangan dilakukan mulai dari proses ekstraksi, pengenceran, hingga penanaman secara berkesinambungan.

2. Penggunaan pelarut pada saat proses ekstraksi

Penggunaan ethanol 90% pada penelitian ini sebagai salah satu pelarut yang bersifat universal pada proses ekstraksi. Namun kecocokannya untuk mengekstrak allisin belum terbukti. Sebaiknya gunakan pelarut yang lebih spesifik untuk mengoptimalkan ekstraksi zat aktif.

Proses ekstraksi memegang peranan penting dalam penelitian ini dikarenakan kualitas zat aktif yang diujikan bergantung pada proses ini. Beberapa faktor yang menjadi penyebab kegagalan proses ekstraksi pada penelitian ini yaitu

1. Rasio campuran

Jumlah ekstrak akan menurun dengan jumlah pelarut yang konstan dan proporsi material simplisia yang meningkat. Hal

ini berarti walaupun jumlah simplisia terus ditambah, hasil ekstrak yang didapatkan tidak akan bertambah jika pelarut yang digunakan tidak sesuai rasio, karena keseimbangan konsentrasi cepat tercapai namun tidak keseluruhan zat aktif terlarut kedalam pelarut yang digunakan (Sudjaji, 1986).

2. Proses pelarutan
Substansi zat aktif akan lebih cepat terlarut dari sel yang terdisintegrasi dibanding dengan sel-sel utuh. Hal ini disebabkan oleh kecepatan difusi pada sel-sel yang terdisintegrasi lebih cepat dibanding dengan sel utuh karena ukurannya yang lebih besar (Harbone, 1984).
3. Perendaman dan pengembangan simplisia
Hal ini merupakan salah satu faktor penting dalam proses ekstraksi dimana terjadi pelebaran sel oleh komponen pelarut sehingga dapat meningkatkan proses difusi. Idealnya pengembangan hanya berfungsi memfasilitasi proses difusi ekstrak tanpa menghalangi terjadinya ekstraksi (Harbone, 1984).
4. Temperatur
Secara umum kenaikan temperature akan meningkatkan jumlah zat terlarut. Temperatur pada proses ekstraksi terbatas pada titik didih dari komponen pelarut. Namun perlu diperhatikan sifat termostabilitas senyawa aktif yang akan diekstraksi (Harbone 1984)

5. Interaksi substansi terlarut dengan material tanaman lain
Dengan pemilihan pelarut yang selektif masih mungkin terjadi penyerapan ekstrak yang terlarut oleh material tanaman penunjang. Hal ini dapat disebabkan karena banyaknya proporsi material tanaman dalam ekstraksi untuk jumlah ekstrak yang relatif kecil (Ibrahim, 2007).
Secara kualitatif zona hambat yang terbentuk pada varietas lumbu kuning lebih besar dibanding zona hambat pada varietas lumbu putih. Hal ini mengindikasikan adanya perbedaan konsentrasi zat antibakteri pada kedua varietas tersebut. Cara kerja Allisin sebagai antibakteri mirip dengan Ampicillin dan turunannya yaitu dengan menghambat pembentukan dinding sel bakteri (Michael, 2006).
Allisin merupakan senyawa antibiotik yang secara alami terdapat pada beberapa tanaman termasuk bawang putih. Sifat Allisin yang mudah menguap menjadi permasalahan tersendiri dalam penggunaannya. Dengan metode ekstraksi yang tepat diharapkan keseluruhan Allisin yang terkandung didalam umbi bawang putih dapat disarikan menjadi bentuk yang lebih stabil sehingga dapat memberikan hasil yang maksimal. Namun pada penelitian ini penggunaan metode ekstraksi maserasi menghasilkan zona hambat

hanya pada konsentrasi 80% dan 100% dengan hasil resisten. Nilai ini berbanding jauh dengan penelitian Pengaruh Perasan Umbi Bawang Putih terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara Invitro (Sulisyani, 2008) dimana pada konsentrasi 40% perasan umbi bawang putih sudah tergolong efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara Invitro. Selain itu pada perasan keseluruhan zat yang memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri selain allisin dapat berperan besar dalam pembentukan zona hambat pada pertumbuhan bakteri, karena tidak adanya seleksi melalui proses ekstraksi. Penelitian lain yang berjudul Uji aktivitas anti bakteri Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* Linn) terhadap bakteri *Escherichia coli* secara Invitro menunjukkan nilai Kadar Hambat Minimum ekstrak bawang putih terhadap bakteri

Escherichia coli yaitu pada konsentrasi 50% serta Kadar Bunuh Minimum pada konsentrasi 50% (Ramadanti, 2008). Hal ini menunjukkan kandungan allicin pada ekstrak bawang putih konsentrasi 50% memiliki aktivitas sebagai pembunuh pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Bakterisid).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa konsentrasi ekstrak bawang putih varietas lumbu putih memberi pengaruh sebesar 68.8% terhadap besarnya zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Zona hambat hanya berkisar pada konsentrasi 100% dan 80% pada keseluruhan pengulangan baik varietas lumbu kuning maupun varietas lumbu putih. Berbanding jauh dengan hipotesis dimana diharapkan pada konsentrasi sama dengan atau lebih dari 40% efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Zona hambat paling efektif terdapat pada konsentrasi 80% dan 100%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih saya ucapkan untuk semua anggota ti yang telah membantu keterlaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, M & Wirjatmadi, B. (2012). *Pengantar Gizi Masyarakat*. Edisi pertama. Jakarta: Penerbit Kencana.
- Afifah, N. (2013). *Uji Salmonella-Shigella Pada Telur Ayam yang Disimpan Pada Suhu dan Waktu yang Berbeda*. Skripsi. Universitas Pasir Pengaraian.
- Anonim. (2016). *Angka Lempeng Total (ALT) bakteri, Most Probable (MPN) Coliform dan uji kualitatif Salmonella pada Telur Ayam Ras Di Kabupaten Blitar..*

- http://repitory.ubaya.ac.id/10023/1/F_946_Abstrak.pdf.
Diakses pada tanggal 12 Maret 2016.
- Irianto, D.P. (2007). *Panduan Gizi Lengkap Keluarga dan Olahragawan*. Yogyakarta: C.V Andi Offset.
- Irianto, K. (2013). *Mikrobiologi Medis*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Nohe, D.A. (2014). *Biostatistika*. Jakarta Barat: Halaman Moeka.
- Notoatmodjo, S. (2010). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Notoatmodjo, S. (2012). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Nurhadi, M. (2012). *Kesehatan Masyarakat Veteriner*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.
- Priyati, Y. (2007). *Gizi & Kesehatan Keluarga*. Jakarta: Penerbit PT. Panca Anugerah Sakti.
- SNI – 7388. (2009). *Batas Cemaran Mikroba dalam Pangan*. <http://sisni.bsn.go.id>.
Diakses pada 13 Januari 2016.
- Sopandi, T. (2013). *Mikrobiologi Pangan*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Warsito, H., Rindiani., Fafa N. (2015). *Ilmu Bahan Makanan Dasar*. Yogyakarta: Nuha Medika, Cetakan Pertama.
- Yuliarti, N. (2007). *Awas! Bahaya Dibalik Lezatnya Makanan*. Yogyakarta: ANDI