

Uji daya hambat ekstrak apel (*Malus sylvestris*) jenis fuji terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

¹Nurlindah Hamrun, ²Fadel Reza Rafsan Hasmi

¹Bagian Oral Biologi

²Mahasiswa Profesi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

E-mail: lindahamrun@gmail.com

ABSTRAK

Streptococcus mutans adalah bakteri Gram positif dan merupakan flora normal mulut yang paling dominan pada biofilm dan mempunyai pengaruh yang kuat sebagai agen penyebab karies. Menurut beberapa penelitian yang telah dilakukan, buah apel diduga mengandung bermacam-macam zat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti flavonoid, catekin dan tannin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui besar daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak apel Jenis Fuji terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian eksperimental ini melibatkan konsentrasi ekstrak apel jenis Fuji ini adalah 100%, 75%, 50% dan 25%. Kadar hambat minimal (KHM) ditentukan dengan kejernihan secara visual dari suspensi bakteri ekstrak apel sedangkan uji daya hambat dengan metode difusi ditentukan dengan melihat seberapa besar zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak apel terhadap bakteri uji di dalam cawan petri. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak apel dengan konsentrasi 100% dan 75% secara signifikan dapat menghambat pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* pada suspensi bakteri ekstrak apel. Ekstrak apel dengan konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat yang paling besar dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya, dan KHM ditemukan pada konsentrasi 75%.

Kata kunci: *Streptococcus mutans*, apel Fuji, efek antibakteri

PENDAHULUAN

Streptococcus mutans merupakan salah satu spesies bakteri yang dominan dalam mulut. Bakteri ini merupakan bakteri penyebab utama terjadinya karies. Telah banyak hasil penelitian yang membuktikan adanya korelasi positif antara jumlah bakteri *S. mutans* pada plak gigi dengan prevalensi karies gigi. Hal ini disebabkan beberapa karakteristik dari *S. mutans* yaitu mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler glukan ikatan $\alpha(1-3)$ yang tidak larut dari sukrosa, dapat memproduksi asam laktat melalui proses fermentasi dan membentuk koloni yang melekat dengan erat pada permukaan gigi.¹ *Streptococcus mutans* merupakan kuman yang kariogenik karena mampu segera membuat asam dari karbohidrat yang dapat diragikan. *Streptococcus mutans* juga bersifat *acidogenik* yaitu mampu menghasilkan asam dan bersifat *acidodurik* yaitu mampu tinggal pada lingkungan asam, sehingga bakteri tersebut dapat tumbuh subur dalam suasana asam dan dapat menempel pada permukaan gigi.²

Buah apel sangat populer di masyarakat, memiliki nama Latin *Malus Sylvestris*, merupakan buah yang kaya akan zat fitokemikal. Manfaat apel bagi kesehatan manusia berhubungan dengan banyaknya polifenol atau fitomekanikal yang terkandung di dalamnya, misalnya flavonoid dan tannin. Flavonoid yang paling penting yang terdapat pada apel adalah flavanol atau catechin atau disebut juga flavan-3-ols, flanovol dan anthocyanin.³ Dalam sebuah penelitian yang dilakukan yaitu uji daya hambat teh hijau terhadap *Streptococcus mutans*, menyebutkan bahwa catechin teh memiliki flavonoid yang memiliki efek antibakteri serta bekerja sebagai antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri.⁴

Dalam sebuah penelitian uji daya hambat ekstrak daun jambu mete terhadap *Streptococcus mutans* menyebutkan bahwa, tannin dan flavonoid memiliki sifat antibakteri, karena tannin yang bersifat astrigen dapat merusak dinding sel dan membran sel bakteri, serta flavonoid yang juga bekerja sebagai antiseptik dan desinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Proses denaturasi protein mengakibatkan koagulasi protein dinding sel bakteri. Apabila bakteri tidak memiliki dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan akan lisis.⁵

Di Indonesia, beredar berbagai jenis apel mulai dari apel lokal hingga apel impor. Apel lokal yang dikembangkan di Indonesia diantaranya adalah *rome beauty* (Apel malang), *manalagi*, *anna*, *princess noble*, dan *wanglin/lali wijo*. Sedangkan apel impor diantaranya *Red Delicious*, *Granny Smith*, dan *Fuji* yang berasal dari Amerika, New Zealand dan Cina. Varietas Fuji adalah jenis apel yang berasal dari Jepang, dan merupakan kombinasi apel, yaitu apel *Red Delicious* dan *Ralls Janet*.³

Dalam sebuah penelitian tentang pengaruh memakan apel dalam pembentukan plak gigi pada anak-anak, menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap pembentukan plak gigi tersebut. Dijelaskan bahwa

apel merupakan buah berserat yang perlu dikunyah lebih lama sebelum ditelan sehingga produksi saliva dapat lebih banyak berperan sebagai pembersih. Selain itu buah berserat juga mempunyai peran menstabilkan pH dalam rongga mulut sehingga dapat mencegah terbentuknya plak gigi.⁶

Dari berbagai macam jenis apel, menurut penelitian varietas apel jenis Fuji memiliki kandungan flavonoid dan fenolik yang tertinggi dibandingkan dengan jenis-jenis apel lainnya. Apel Fuji memiliki 110 mg flavonoid per 100 g dan 230 mg fenolik per 100 g. Apel fuji juga dilaporkan memiliki kandungan seperti tannin, dan catechin.^{3,7}

berdasarkan asumsi tersebut, maka lewat penelitian ini akan dilakukan Uji daya hambat ekstrak apel (*Malus sylvestris*) jenis fuji terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

BAHAN DAN METODE

Penelitian eksperimental laboratoris dengan prosedur penelitian yang terdiri dari sterilisasi alat, pembuatan medium, pembuatan ekstrak buah apel (*Malus Sylvestris*) jenis Fuji berdasarkan konsentrasi yang dibutuhkan, uji daya hambat dengan penentuan kadar hambat minimum (KHM), dan secara difusi yaitu menggunakan *paper disk* untuk mengetahui zona inhibisi ekstrak tersebut.

Bahan yang disterilkan adalah medium pembenihan. Cara sterilisasi adalah medium *brain heart infusion broth* (BHIB) yang telah dimasukkan ke dalam tabung kemudian disterilkan ke dalam otoklaf selama 25 menit pada suhu 121°C. Prosedur selanjutnya adalah pembuatan medium *brain heart infusion broth* (BHIB) dan agar *Mueller Hinton* (MHA). Medium BHIB adalah medium yang digunakan untuk menentukan KHM (Uji MIC) dengan komposisi *brain infusion* 12,5 gram, *heart infusion* 5,0 g, proteose peptone 10,0 g, D (+) Glucose 2,0 g, sodium chloride 5,0 g dan *disodium hydrogen phosphate* 2,5 g. BHIB dilarutkan sebanyak 37 g ke dalam 1 liter akuades, kemudian sterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 25 menit. Biarkan hingga suhunya turun sampai 40°C, kemudian tuangkan ke dalam tabung reaksi. Komposisi medium MHA adalah *beef extract powder* 20 g, *acid digest of casein* 17,5 g, 15 g, Agar 17 g. MHA dilarutkan sebanyak 38 g ke dalam 1 liter akuades, kemudian sterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 25 menit. Biarkan hingga suhunya turun sampai 40°C. Kemudian tuangkan ke dalam tabung reaksi.

Langkah selanjutnya pembuatan ekstrak buah apel (*Malus Sylvestris*) jenis Fuji. Buah apel Fuji yang sudah dicuci bersih, dipotong menjadi potongan yang kecil. Selanjutnya dimasukkan ke dalam *juicer* sehingga dihasilkan jus apel yang kemudian dimasukkan ke dalam tabung *sentrifuge* kemudian di-*sentrifuge* dengan mesin sentrifugasi. Dilakukan pengenceran untuk menghasilkan beberapa konsentrasi ekstrak buah apel (*Malus Sylvestris*) jenis Fuji yang akan digunakan untuk KHM dari ekstrak apel jenis Fuji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Dalam penelitian ini dibuat pengenceran 25%, 50%, 75% dan 100%.

Pengukuran uji daya KHM dilakukan dengan cara labu erlenmeyer yang berisi MHA kemudian masukkan 4 µl biakan *Streptococcus mutans* lalu diaduk sampai tercampur. Siapkan 6 buah tabung reaksi kemudian masukkan MHA yang telah tercampur dengan isolat *Streptococcus mutans* masing-masing tabung reaksi diisi dengan 25 ml MHA dan dibiarkan hingga memadat. Ke dalam tabung dimasukkan 5 ml ekstrak apel Fuji yang telah diencerkan, tiap konsentrasi pengenceran dimasukkan ke dalam 1 tabung biakan bakteri, kecuali satu tabung kontrol untuk antibiotik murni sebagai kontrol positif. Semua tabung reaksi selanjutnya disimpan dalam inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Kadar hambat antimikroba ditentukan berdasarkan konsentrasi dari bahan uji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan berkurangnya atau tidak adanya bakteri yang tumbuh.

Prosedur terakhir adalah pengukuran uji daya hambat antimikroba. Uji ini bertujuan untuk mengetahui kepekaan ekstrak Apel Fuji terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Prosedur kerja uji adalah 200 medium MHA dibuat untuk dimasukkan ke dalam 3 cawan petri dengan ukuran yang sama. Medium dimasukkan ke dalam cawan petri sampai seluruh permukaannya tertutupi secara merata. Tanpa menunggu medium MHA memadat, *paper disk* yang telah direndam sejenak ke dalam ekstrak apel Fuji diletakkan ke dalam cawan petri. Setelah medium MHA memadat, cawan petri tersebut diinkubasi selama 24 jam di inkubator. Diamter zona inhibisi yang terbentuk (daerah jernih tanpa pertumbuhan bakteri) diukur dengan kaliper dan dinyatakan dalam milimeter.

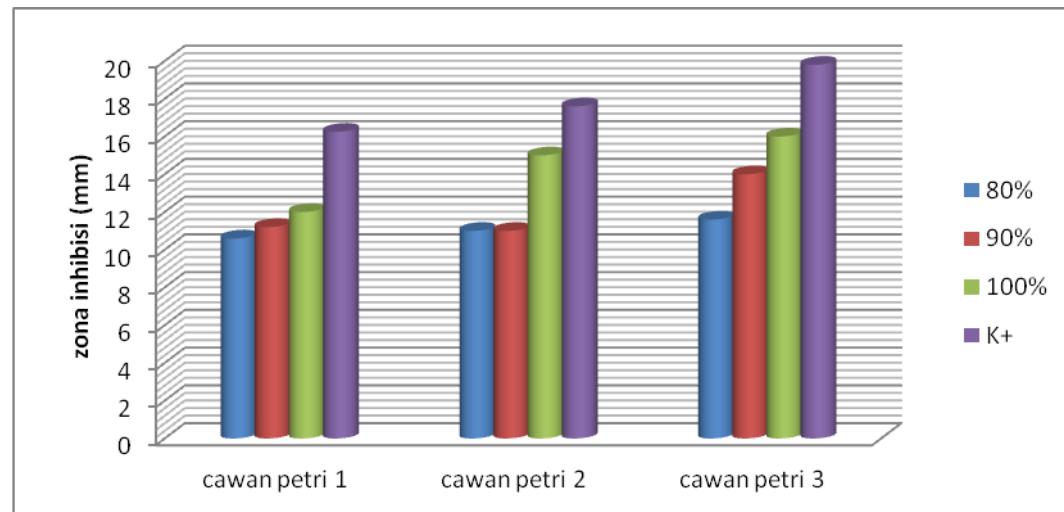
HASIL PENELITIAN

Dari penelitian yang dilakukan didapatkan KHM pada ekstrak apel (*Malus Sylvestris*) berada pada konsentrasi 75%. Ekstrak buah apel (*Malus Sylvestris*) jenis Fuji dibagi dalam 4 konsentrasi yaitu 70%, 80%, 90%, 100% dan sebagai kontrol positif amoxycillin 500 mg. Hasil pengamatan setelah diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C adalah pada konsentrasi 70% tidak terlihat adanya zona bening sedangkan pada konsentrasi 80%, 90% dan 100% terlihat adanya zona bening. Hasil pengukuran pada tabel di atas menunjukkan bahwa konsentrasi 80% menghasilkan diameter zona bening terkecil yaitu sebesar 11,6 mm dan konsentrasi 100% menghasilkan diameter zona terbesar yaitu 16 mm. Pada tabel menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak buah apel fuji semakin besar pula zona bening yang terbentuk.

Tabel 1 Rerata zona inhibisi cawan petri I, II, dan III

Konsentrasi Sampel	Pengukuran Zona Inhibisi (mm)			Rata-rata
	Cawan Petri 1	Cawan Petri 2	Cawan Petri 3	
70%	-	-	-	-
80%	10,6	11	11,6	11,07
90%	11,2	11	14	12,07
100%	12	15	16	14,34
K+	16,25	17,6	19,8	17,8

Keterangan : K+: Kontrol Positif



Grafik 1 Hasil pengukuran zona inhibisi ekstrak apel Fuji

PEMBAHASAN

Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak apel Fuji mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh karena terganggunya proses sintesis dinding sel serta fungsi membran selbakteri akibat terpapar bahan anti bakteri yang terdapat pada ekstrak apel fuji yaitu flavonoid, catekin dan tanin.^{7,8}

Flavonoid bekerja sebagai antiseptik dan desinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Proses denaturasi protein mengakibatkan koagulasi protein dinding sel bakteri sehingga bakteri akan mati. Flavonoid yang terdapat pada ekstrak apel Fuji diperkirakan mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri sehingga menyebabkan dinding sel bakteri *Streptococcus mutans* mengalami lisis.⁵

Para peneliti menyatakan pendapat yang berbeda-beda sehubungan dengan mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.^{9,10} Sementara Mirzoeva et al¹¹ dalam penelitiannya mendapatkan bahwa flavonoid mampu melepaskan energi tranduksi terhadap membran sitoplasma bakteri selain itu juga menghambat mobilitas bakteri. Mekanisme yang berbeda dikemukakan oleh Di Carlo et al¹² dan Estrela et al¹³ yang menyatakan bahwa gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri.

Dalam sebuah penelitian tentang daya hambat catechin dari teh hijau menyebutkan bahwa catekin yang terdapat pada teh hijau dapat mengganggu integritas membran sel bakteri yang kemudian

menyebabkan kebocoran liposom. Kerusakan membran terjadi sehingga katekin masuk atau berinteraksi dengan area polar luar dari lapisan lipid ganda pada liposom.⁴

Mekanisme kerja katekin dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* melalui dua cara yaitu sebagai bakterisidal dan menghambat proses glikosilasi. Kemampuan katekin sebagai bakterisidal adalah dengan cara mendenaturasi protein dalam sel bakteri. Katekin yang merupakan senyawa toksik mengakibatkan terganggunya struktur tiga dimensi protein sel bakteri sehingga menjadi terbuka dan acak tanpa merusak struktur kerangka kovalennya. Hal ini mengakibatkan protein pada sel bakteri terdenaturasi, sehingga aktivitas biologisnya rusak yang menyebabkan protein tidak mampu menjalankan fungsinya. Kemampuan katekin dalam menghambat proses glikosilasi adalah karena katekin akan bekerja secara kompetitif dengan glukosiltransferase (GTFs) dalam mereduksi sakarida yang merupakan bahan dasar proses glikosilasi, sehingga pembentukan polisakarida ekstraselular pada bakteri terhambat. Aktivitas katekin dalam mereduksi glukosa jauh lebih besar dibandingkan dengan aktivitas GTFs dalam menggunakan glukosa tersebut.^{14,15} hal ini yang menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat.

Daya antibakteri pada tannin juga diduga dapat merusak membran sel bakteri, selain itu senyawa astringent tannin juga dapat mengkerutkan dinding sel dan membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri.¹⁶ Akibat terganggunya permeabilitas, bakteri tidak dapat melakukan aktivitas hidupnya sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.

Tannin mempunyai sifat sebagai antibakteri yang berefek spasmolitik, yang dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Masduki¹⁷ menyatakan bahwa tannin juga mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik. Karena tannin pada ekstrak apel Fuji cukup banyak, penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* diduga juga disebabkan oleh mekanisme ini.

Mekanisme kerja tannin sebagai antibakteri menurut Naim¹⁸ berhubungan dengan kemampuan tannin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel, enzim yang terikat pada membran sel dan polipeptida dinding sel. Tannin yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel, karena tannin merupakan senyawa fenol.

Senyawa fenol mudah membentuk kompleks protein melalui ikatan hidrogen. Senyawa fenol berikatan dengan atom H dari protein sehingga protein terdenaturasi. Protein yang merupakan komponen enzim apabila mengalami kerusakan akan mengganggu enzim. Apabila terjadi kerusakan pada enzim, maka akan mengakibatkan metabolisme menurun, sehingga ATP menurun. ATP yang menurun mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan sel bakteri dan selanjutnya menyebabkan kematian sel.¹⁹

Tannin menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri menyebabkan sel bakteri tanpa dinding yang disebut protoplasma.²⁰ Kerusakan pada dinding sel bakteri akan menyebabkan kerusakan membran sel yaitu hilangnya sifat permeabilitas membran sel, sehingga keluar masuknya zat-zat antara lain air, nutrisi, enzim-enzim tidak terseleksi. Apabila enzim keluar dari dalam sel, maka akan terjadi hambatan metabolisme sel dan selanjutnya akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel. Bila hal ini terjadi, maka akan terjadi hambatan pertumbuhan bahkan kematian sel.

Hageman et al²¹ menyatakan bahwa jika terbentuk ikatan hidrogen antara tannin dan protein, terutama pada pH mendekati isoelektrik (4-5) kemungkinan yang terjadi adalah protein menjadi terendapkan. Fenomena ini dikenal dengan denaturasi protein, jika protein enzim dari bakteri terdenaturasi, enzim akan menjadi inaktif sehingga metabolisme bakteri akan terganggu yang berakibat pada kerusakan sel. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh tannin menurut Brannen dan Davidson²² antara lain dengan cara bereaksi dengan sel membran, inaktivasi enzim-enzim esensial dan destruksi atau inaktivasi fungsi dan material genetik.

Antibiotik amoksisilin sebagai kontrol positif dalam penelitian ini mampu membentuk zona inhibisi terhadap bakteri *Streptococcus mutans* karena memiliki kemampuan kerja sebagai zat anti bakteri terhadap bakteri gram positif termasuk *Streptococcus mutans* melalui mekanisme penghambatan sintesa dinding sel bakteri. Amoksisilin adalah derivat penisilin dan bersifat bakterisidal. Obat ini menyebabkan sel menjadi lisis. Reaksi merugikan yang sering dari pemberian obat golongan penisilin adalah hipersensitivitas dan superinfeksi, yakni timbulnya infeksi sekunder jika flora normal tubuh terganggu.^{23,24}

SIMPULAN

Ekstrak apel jenis Fuji dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 80%, 90% dan 100%. Besarnya konsentrasi ekstrak apel jenis Fuji mempengaruhi daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

SARAN

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang kandungan zat aktif pada apel jenis Fuji yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan apakah interaksi dari masing-masing fitomekanikal yang terkandung di dalamnya dapat mempengaruhi daya antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sabir A. Aktivitas antibakteri non-flavonoid Propolis Trigona SP terhadap pertumbuhan Streptococcus mutans (in vitro). JITEKGI 2010; 7(1); 37-42
2. Kidd EAM, Joyston S, Bechal. Dasar-dasar karies penyakit dan penanggulangannya. London: EGC; 1992, p.2-3
3. Yulianti S, Iriansyah, Edi J, Mufatis W. Khasiat & manfaat apel. Agro Media; 2007. Pp. 7-10, 12, 14, 22-31
4. Oewen RR, Mahmud M, Hardjawinata K. Daya hambat catechin dari teh hijau terhadap Streptococcus mutans. J Ked Gigi 1997; 9(1): 1-6
5. Malahayati C, Lestari S. Pegaruh makan apel dalam pembentukan plak gigi pada anak-anak panti asuhan Al-khairiyah. Jurnal PDGI; (54): 19.
6. Fadlilah R, Handajani J, Haniastuti T. Ekstrak daun jambu mete konsentrasi 10% yang dikumurkan dapat menghambat pertumbuhan Streptococcus mutans. Dentika Dent J 2010; 15: 143
7. Boyer J, Liu HR. Apple phytochemicals and their health benefits. Nutrition J 2004: 1-15.
8. Sudarsono, Phill N, Gunawan D, Wahyuono, Subagus, Donatus, dkk. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada; 2002: 5-8
9. Bryan LE. Bacterial resistance and susceptibility. Sydney: McGraw-Hill Co; 1982. p. 20-4.
10. Wilson, Gisvold. Kimia farmasi dan medisinal organik. Edisi ke- 8. Achmad Mustofa Fatah. Jakarta: Dirjen Dikti dan Kebudayaan; 1982. h. 10-2.
11. Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth,membrane potential, and motility of bacteria. Microbiol Res 1997; 152:239-46.
12. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F. Falvonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci 1999; 65 (4):337-53.
13. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Jr O. Mechanismof action calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. Brazil Dent J 1995; 6:85-90.
14. Dea Hasim. Sirih Sebagai Anti Bakteri. Available from: URL: <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0309/24/iptek/578008.htm>.(diakses tanggal 26 Juli 2012)
15. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Jakarta: EGC; 2003. p. 650.
16. Ajizah A. Sensitivitas Salmonella Thyphimurium terhadap ekstrak daun Psidium Guajava L. Bioscientae 2004; 1(1): 31-8
17. Masduki I. Efek antibakteri ekstrak biji pinang (Areca catechu) terhadap S. aureus dan E. coli. Cermin Dunia Kedokteran 1996; 109: 21-4.
18. Naim R. Senyawa Antimikroba Dari Tanaman, IPB, Bogor, 2004, <http://64.203.71.11/kompas-cetak/040915/sorotan/1265264.htm>. Diakses Tanggal 7 Juli 2012.
19. Harborne JB. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern MenganalisisTumbuhan, Penerbit ITB, Bandung, 1987
20. Hayati N. Uji Daya Antibakteri Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri E. coli, Universitas Negeri Malang, Malang, 2006
21. Hagerman AE, Rice ME, Richard NT. Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and apicatechin 16(4-8) catechin (procyanidin). J Agri Food Chem 1998; 46.
22. Brannen LA, Davidson PM. Antimicrobials in foods. New York: Marcell Dekker. inc.; 1993.
23. Ganiswarna SG, Setiabudi R, Suyatna FD, Purwantyastuti, Nafriadi. Farmakologi dan terapi. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995, pp.572-627
24. Jawets E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Mikrobiologi kedokteran (Medical Microbiology). Alih Bahasa Nugroho E, Maulany RF. Ed.20. Editor Setiawan I. Jakarta: EGC; 1996. pp.26, 218-9; 223.