

In Vitro Analysis of Antibacterial Activity of Black Seed Oil Against *Salmonella* Typhi

Indri Zulfayanto¹, Henni Vanda^{2*}, Muhammad Hambal³, Wahyu Eka Sari⁴, Muttaqien³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding author: hennivanda75@usk.ac.id

ABSTRACT

Salmonella sp. is one of the bacteria that causes diarrhea in animals and humans, especially in naive animals whose immune systems have not yet been formed. In relation to the emergence of antibiotic resistance against *Salmonella typhi*, it is necessary to develop an innovation regarding alternative medicines that use herbal medicines as antibacterials, one of which is black seed oil which contains active substances such as thymoquinone. *Nigella sativa*, commonly known as black seed, has long been used as herbal medicine with many benefits. This study aimed to determine the antibacterial activity of black seed oil against *S. typhi* bacteria in vitro. This study used *S. typhi* ATCC 14028, which had been previously re-identified using Gram staining. The black seed oil for the antibacterial test was prepared with three concentrations, 45%, 70%, and 100%, with dimethyl sulfoxide (DMSO) as a negative control and ciprofloxacin as a positive control. Black seed oil's antibacterial test was carried out using the Kirby Bauer method. The data was analysed descriptively. The results showed that black seed oil was not effective in inhibiting the growth of *S. typhi*, where the inhibition zone formed was less than 5 mm. This is because the antigenic structure of *S. typhi* has Vi antigens or capsular antigens which are made of polysaccharide polymers found outside the cell to protect the bacteria from outside influences. Therefore, the active ingredients in the black seed oil was unable to reach the site of action on the bacteria so they failed to inhibit or kill the *S. typhi* bacteria. It can be concluded that the black seed oil used in this study was not effective in inhibiting the growth of *S. typhi* ATCC 14028.

Keywords: Antimicrobial, Gram negative, herbal medicine, *Nigella sativa*

PENDAHULUAN

Bakteri *Salmonella* sp. merupakan salah satu bakteri penyebab diare pada hewan dan manusia, terutama pada hewan muda yang sistem imunnya belum terbentuk. *Salmonella* sp. merupakan bakteri fakultatif yang berbentuk batang dan mempunyai flagel peritrik untuk bergerak. *Salmonella* sp. mudah tumbuh pada media yang sederhana, hampir tidak pernah memfermentasikan laktosa atau sukrosa. *Salmonella* sp. tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob dengan suhu optimum 37°C (Ardiansyah *et al.* 2018).

Salmonella sp. dapat menimbulkan berbagai macam manifestasi penyakit baik pada hewan ataupun manusia. *Salmonella* sp. akan berkembang biak di dalam alat pencernaan penderita, sehingga terjadi

radang usus (enteritis). Radang usus serta infeksi lamina propria akibat infeksi *Salmonella* sp. dapat menimbulkan diare akut (Cita, 2011). Selain itu, umumnya pada manusia, infeksi *Salmonella* sp. dapat menyebabkan demam enterik serta gastroenteritis (Widianingsih dan Dewi, 2017). *Salmonella* sp. menyerang saluran pencernaan yang mencakup perut, usus halus, usus besar atau kolon. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella* sp. pada manusia adalah demam tifoid. Demam tifoid adalah penyakit demam akut yang disebabkan oleh infeksi bakteri *S. enterica* khususnya turunannya *S. typhi* (Rahmasari dan Lestari, 2018).

Terapi utama yang dipakai dalam penanganan demam tifoid adalah antibiotik kloramfenikol. Sejak dulu kloramfenikol adalah pilihan pengobatan untuk demam

tifoid. Seiring dengan kemajuan bidang kedokteran telah dikembangkan lagi obat-obatan seperti sulfonamid, sefalosporin, dan fluoroquinolone. Antibiotik golongan fluorokuinolon (ciprofloxacin, ofloxacin dan pefloxacin) merupakan obat yang efektif untuk pengobatan demam tifoid yang disebabkan oleh strain yang tidak resisten terhadap fluorokuinolon dengan angka kesembuhan klinis 98% dan waktu penurunan demam 4 hari, angka kekambuhan dan fecal carrier kurang dari 2% (Pratiwi *et al.* 2018). Antibiotik kotrimoksazol, siprofloksasin, ofloksasin, amoksisilin, dan sefalosporin generasi ketiga menjadi alternatif obat tifoid apabila kloramfenikol sebagai lini pertama sudah tidak lagi efektif (Perdana dan Setyawati, 2016). Penelitian Silvan *et al.* (2013) menunjukkan bahwa *S. typhi* sensitif terhadap kloramfenikol, (65%); amoksisilin, (15%); dan kotrimoksazol, (80%); resisten terhadap kloramfenikol, (10%); amoksisilin, (85%); dan kotrimoksazol, (20%); dan intermediat terhadap kloramfenikol, (25%). Hasil penelitian ini menunjukkan antibiotik kloramfenikol dan kotrimoksazol masih sensitif terhadap bakteri *S. typhi*, sedangkan amoksisilin sudah resisten.

Sehubungan dengan timbulnya banyak resistensi antibiotik terhadap *S. typhi* maka perlu dilakukan penelusuran mengenai obat alternatif yang memanfaatkan obat herbal sebagai antibakteri, salah satunya adalah minyak habbatussauda yang mengandung zat aktif seperti thymoquinone dan dithymoquinone (Sulvita, 2018). *Nigella sativa* (famili *Ranunculaceae*) atau yang biasa dikenal dengan habbatussauda sudah lama digunakan sebagai salah satu obat herbal yang memiliki banyak manfaat seperti antidiare, penambah nafsu makan, antihelmintik, diuretik, antibakteri, analgesik, penyakit kulit, antiinflamasi dan rematik (Widjaja, 2020). Habbatussauda memiliki kandungan zat aktif

thymoquinone, dithymoquinone, thymohydroquinone dan thymol (Ningtyas *et al.* 2015). Thymoquinone adalah zat aktif utama dari *volatile oil* (minyak atsiri) habbatussauda dan diduga bekerja dengan cara membentuk kompleks yang irreversible dengan asam amino nukleofilik pada protein bakteri sehingga menyebabkan inaktivasi protein. Secara garis besar senyawa aktif dalam habbatussauda bekerja dengan cara mengganggu fungsi selubung (dinding sel) bakteri (Hidayat *et al.* 2022). Thymoquinone terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi, meskipun mekanisme aksi antimikroba dari senyawa-senyawa ini belum jelas (Sentoso dan Siregar, 2017). Ekstrak methanol habbatussauda menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan pada bakteri Gram positif dan negatif (Jamil *et al.* 2014).

Menurut penelitian Putra (2015) didapatkan hasil bahwa ekstrak habbatussauda terbukti mempunyai efektivitas antibakteri terhadap *S. typhi* secara *in vitro* pada konsentrasi 45%. Asniyah (2009) juga melakukan penelitian efek antimikroba minyak habbatussauda terhadap bakteri *E. coli* dan didapatkan hasil minyak habbatussauda mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* pada konsentrasi 100%, 75%, dan 50%. Lalu Ashraf *et al.* (2018) juga membuktikan bahwa ekstrak metanol habbatussauda dan minyak habbatussauda memiliki antibakteri potensial terhadap isolat *S. enterica* asal manusia dan unggas. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, kami ingin melihat efektivitas minyak habbatussauda dalam menghambat bakteri *S. typhi* ATCC 14028 secara *in vitro*.

MATERI DAN METODE

Peremajaan biakan bakteri *Salmonella typhi*

Bakteri *S. typhi* perlu dilakukan peremajaan biakan pada media selektif yaitu

media SSA. Bakteri diinokulasi menggunakan jarum ose dengan membuat goresan kuadran pada media SSA, kemudian bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pewarnaan Gram untuk reidentifikasi bakteri

Pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan ulang spesies bakteri *S. typhi* yang digunakan. Bakteri pada media SSA diambil satu koloni terpisah dan dioleskan pada *object glass* yang telah disterilkan dan ditetaskan NaCl 0.9%, lalu dikeringkan dan difiksasi diatas bunsen. Selanjutnya sediaan ditetesi larutan kristal violet dan ditunggu selama 1 menit, lalu zat warna dicuci pada air mengalir. Sedangkan larutan lugol ditetesi pada *object glass* dan ditunggu selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir. Untuk melunturkan zat warna perlu diberikan alkohol 96% selama 10 detik kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, ditetesi safranin serta ditunggu selama 2 menit dan dibilas dengan air mengalir. Setelah sampel dikeringkan dapat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, untuk memperjelas objek saat pengamatan sampel dapat ditetesi dengan minyak emersi.

Pembuatan Suspensi Bakteri uji

Dilakukan regenerasi bakteri *S. typhi* ATCC 14028 pada media pertumbuhan *Nutrien Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dilanjutkan dengan standarisasi 0,5 *Mc Farland* ($1,5 \times 10^8$ CFU / mL).

Uji Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*

Uji daya hambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* menggunakan metode *Kirby Bauer*. *S. typhi* yang telah dioleskan pada media MHA dibiarkan dahulu lima menit supaya mengering. Minyak habbatussauda yang telah diencerkan dengan DMSO pada

konsentrasi 45%, 70% dan 100% ditetaskan pada kertas cakram kemudian diletakkan di atas media MHA. Cakram ditekan lembut dengan menggunakan pinset pada permukaan lempengan sehingga terdapat kontak yang baik antara cakram dan lempengan agar. Pada media tersebut juga diletakkan cakram antibiotik ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan cakram DMSO sebagai kontrol negatif. Jarak diatur sedemikian rupa sehingga satu cakram dengan lainnya tidak berdekatan. Bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona hambat yang terbentuk dan diukur dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong sebanyak tiga kali dengan posisi yang berbeda dan kemudian dirata-ratakan (Afriani, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

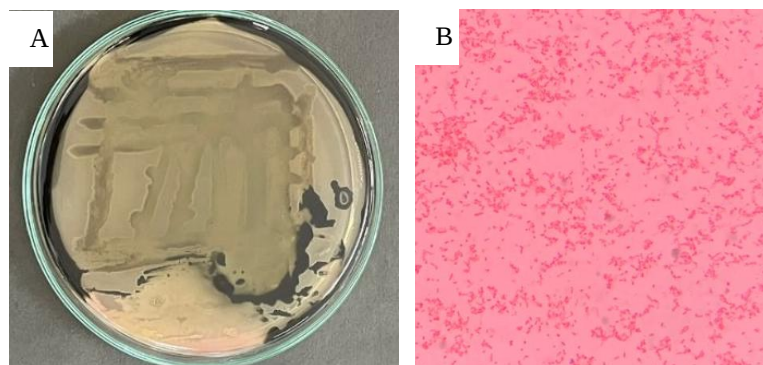
Pewarnaan Gram Bakteri *Salmonella typhi*

Reidentifikasi sampel bakteri *S. typhi* ATCC 14028 yang telah dilakukan, pada media SSA koloni bakteri terlihat berwarna kehitaman (Gambar 1A). Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis (Gambar 1B) terlihat sel bakteri *S. typhi* berbentuk batang, bakteri menyebar dan berwarna merah karena Gram negatif.

Bakteri *Salmonella typhi* yang tumbuh pada media selektif SSA terlihat bahwa koloni bakteri tersebut mengubah warna dari transparan menjadi kehitaman. Menurut Ulya *et al.* (2020) *S. typhi* dapat mereduksi tiosulfat menjadi sulfat yang mengakibatkan terbentuknya warna hitam, oleh karena itu koloni bakteri *S. typhi* pada media SSA

berwarna hitam. B). Gambar B menunjukkan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dapat terlihat bahwa *S. typhi* berbentuk batang, berwarna merah dan susunan bakteri menyebar. Bakteri *Salmonella* adalah

bakteri Gram negatif dengan dua lapisan dinding sel, terdiri atas lipopolisakarida dan protein pada lapisan luar, serta peptidoglikan yang lebih tipis dari bakteri Gram positif pada lapisan dalam (Safitri *et al.* 2019).

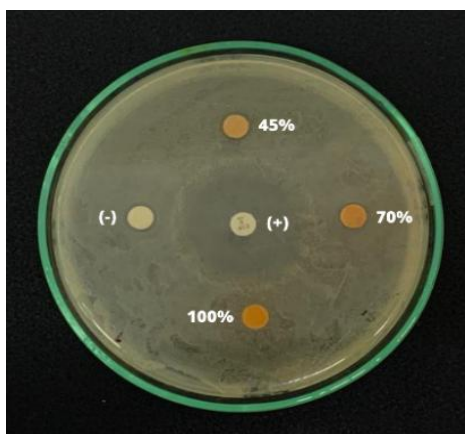


Gambar 1. Morfologi sel bakteri bakteri *S. typhi* di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x

Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi*

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri dari minyak habbatussauda terhadap bakteri *S. typhi*. Metode yang digunakan adalah metode *Kirby Bauer* dengan konsentrasi minyak habbatussauda 45%, 70% dan 100% terhadap bakteri *S. typhi* ATCC 14028. Pada pengujian DMSO sebagai kontrol negatif menunjukkan hasil berupa terbentuknya zona hambat. DMSO memiliki kelemahan

yaitu memiliki aktivitas antibakteri namun tidak sebesar konsentrasi minyak habbatussauda (Patel *et al.* 2009). Menurut penelitian Oktavianti *et al.* (2020) pelarut yang digunakan juga DMSO dan terbentuk zona hambat sebesar 5 mm. Pada penelitian ini, DMSO juga menimbulkan zona hambat. Oleh karena itu, zona hambat dari masing-masing perlakuan dikurangi dengan zona hambat DMSO untuk mendapatkan luas zona hambat yang sebenarnya (Gambar 2).



Gambar 2. Zona hambat hasil uji minyak habbatussauda terhadap bakteri *S. typhi* ATCC 14028 dengan variasi konsentrasi 45%, 70%, 100%, dengan kontrol (+): ciprofloxacin dan kontrol (-): DMSO.

Pengujian minyak habbatussauda dengan berbagai konsentrasi terhadap *S. typhi* menunjukkan rata-rata diameter zona

hambat yang terbentuk pada 24 jam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat (mm) minyak habbatussauda terhadap bakteri *Salmonella typhi*

No	Konsentrasi minyak habbatussauda	Rerata diameter zona hambat (mm) (sebelum dikurangi kontrol negatif)	Rerata diameter zona hambat (mm) (setelah dikurangi kontrol negatif)	Daya hambat minyak
P1	45%	7.95±0.36	0,78±0.29	Tidak ada
P2	70%	8.08±0.80	0,91±0.85	Tidak ada
P3	100%	7.28±0.83	0,11±0.80	Tidak ada
C1	Kontrol Positif	28.08±0.20	28.08±0.20	Kuat
C0	Kontrol Negatif	7.16±0.07	-	Tidak ada

Keterangan: Klasifikasi zona hambat menurut Greenwood (1995).

Hasil pengujian daya antibakteri minyak habbatussauda terhadap bakteri *S. typhi* menunjukkan bahwa tidak terbentuk zona hambat pada semua konsentrasi (Tabel 1). Penggolongan kekuatan antibakteri menurut Greenwood (1995) menyatakan bahwa apabila zona hambat terbentuk >20 mm termasuk dalam kategori kuat, jika terbentuk zona hambat 16-19 mm dikategorikan sedang, 10-15 mm dikategorikan lemah, kemudian jika terbentuk zona hambat <10 mm maka dikategorikan tidak ada.

Hasil penelitian minyak habbatussauda terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi* memiliki zona hambat <5 mm, sehingga dapat disimpulkan bahwa minyak habbatussauda dengan konsentrasi 45%, 70% dan 100% tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* ATCC 14028 bila dibandingkan dengan kontrol positif yaitu ciprofloxacin. Musdalifah (2016) juga melakukan penelitian terhadap minyak habbatussauda terhadap bakteri *S. typhi* dan didapatkan zona hambat yang kecil yang terbentuk pada konsentrasi 80% dan 100%. Tidak efektifnya minyak habbatussauda terhadap

S. typhi karena struktur antigenik *S. typhi* memiliki antigen virulen (Vi) atau antigen kapsuler yang terbuat dari polimer polisakarida yang terdapat di luar sel untuk melindungi bakteri dari pengaruh luar. Hal ini mengakibatkan zat antibakteri dalam minyak habbatussauda tidak dapat mencapai tempat kerjanya pada bakteri sehingga gagal menghambat atau membunuh bakteri *S. typhi* (Karsa dan Latief, 2020). Bakteri Gram negatif memiliki susunan dinding sel yang lebih kompleks dibanding bakteri Gram positif sehingga senyawa antibakteri akan lebih sulit untuk menembus lapisan dinding bakteri Gram negatif (Putri *et al.*, 2019). Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa peptidoglikan, dan lapisan dalam berupa lipopolisakarida. Dinding sel bakteri Gram positif hanya terdiri dari satu lapis dinding sederhana, sehingga bakteri Gram positif akan lebih sensitif terhadap antibakteri (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Penelitian yang dilakukan Fatima (2018), menunjukkan daya hambat ekstrak biji habbatussauda lebih tinggi terhadap strain bakteri Gram positif daripada strain bakteri Gram negatif. Hasil

temuannya menunjukkan bahwa senyawa fenolik meningkatkan aktivitas terhadap strain bakteri Gram positif dibandingkan dengan strain bakteri Gram negatif, karena adanya membran luar di dinding sel yang bertindak sebagai penghalang permeabilitas dan mengurangi penyerapan polifenol.

Aktivitas antibakteri tidak hanya dipengaruhi oleh faktor dinding sel bakteri saja. Terdapat empat faktor yang mempengaruhi daya hambat antibakteri antara lain adalah konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Lestari *et al.* 2016). Secara umum, bakteri Gram positif lebih rentan terhadap minyak atsiri daripada bakteri Gram negatif, atau dengan kata lain bakteri Gram negatif lebih resisten terhadap minyak atsiri (Yunilawati *et al.* 2021). Senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri pada minyak habbatussauda diantaranya adalah thymoquinone, thymol, p-cymene, senyawa fenolik, dan senyawa flavonoid (Afifah, 2021). Senyawa flavonoid pada umumnya merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga mudah larut pada pelarut polar. Ketika minyak habbatussauda yang mengandung senyawa flavonoid diletakkan dalam biakan bakteri *S. typhi* yang memiliki struktur dinding sel berupa lapisan polisakarida maka minyak tersebut sulit untuk berdifusi ke dalam sel bakteri (Iguchi *et al.*, 2015).

Faktor lain yang mempengaruhi penelitian ini adalah suhu dan iklim asal tanaman. Biji habbatussauda ditanam di daerah Mediterania seperti Pakistan dan India. Di daerah subtropis, biji habbatussauda tumbuh di daerah dataran tinggi yang lingkungan tanahnya basa, suhu lebih rendah yaitu lebih rendah dari 20°C dan curah hujan rendah. Pertumbuhan biji habbatussauda di setiap daerah berbeda. Hal inilah yang biasa disebut dengan cekaman suatu kondisi yang mengubah kondisi

lingkungan tempat tumbuhan tumbuh. Adanya cekaman menginduksi berbagai respon tanaman dalam hal pertumbuhan dan produksi tanaman. Tumbuhan memiliki respons fisiologis dan biokimia sebagai respons terhadap tekanan ini. Semakin besar cekaman maka tanaman akan beradaptasi melalui berbagai mekanisme yang kompleks yaitu dengan mengubah struktur protein dan mengurangi aktivitas enzim dalam kloroplas. Selanjutnya dapat mengubah struktur dan morfologi tanaman serta masa pertumbuhannya (Oktavianti *et al.* 2020). Hal ini mempengaruhi kualitas dari minyak habbatussauda tersebut sehingga berpengaruh terhadap kemampuan minyak habbatussauda dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Kontrol positif (ciprofloxacin) terlihat zona hambat sebesar 28,08±0.20 mm (kuat) disekitar cakram disk. Ciprofloxacin merupakan antibiotik yang digunakan untuk bakteri Gram positif dan negative (Hazimah *et al.* 2019). Ciprofloxacin merupakan golongan fluorokuinolon yang mempunyai mekanisme menghambat DNA yang diperlukan oleh bakteri untuk replikasi DNA sehingga sintesa DNA kuman terganggu. Fluoroquinolone memiliki penetrasi ke jaringan yang sangat baik dan dapat membunuh *S. typhi* intraseluler di dalam monosit atau makrofag, serta mencapai kadar yang tinggi dalam kantung empedu dibandingkan antibiotik lain. Mekanisme kerja dari fluorokuinolon termasuk ciprofloxacin berbeda dengan antimikroba lainnya seperti beta laktam, makrolida, tetrasiklin atau aminoglikosida. Oleh karena itu, organisme yang resisten terhadap antibiotik tersebut dapat masih sensitif dengan ciprofloxacin (Raini, 2016). Ciprofloxacin terbukti efektif melawan infeksi bakteri *S. typhi* yang telah mengalami *multi drug resistance* (MDR) terhadap antibiotika kloramfenikol (Oktaviana dan Noviana, 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa minyak habbatussauda yang digunakan dalam penelitian ini tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* ATCC 14028 karena zona hambat yang terbentuk kurang dari 5 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiansyah, E., & Harris, A. (2018). Pengaruh Efektivitas Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella* Sp. *JIMVET E-ISSN*, 2540-9492.
- Ashraf, S., Anjum, A. A., Ahmad, A., Firyal, S., Sana, S., & Latif, A. A. (2018). In vitro activity of *Nigella sativa* against antibiotic resistant *Salmonella enterica*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 58, 54-58.
- Asniyah. (2009). Efek antimikroba minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Eschericia coli* in vitro. *Jurnal Biomedika*, 1(1): 26-29.
- Cita, Y. P. (2011). Bakteri *Salmonella typhi* dan demam tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*, 6(1), 42-46.
- Lestari, Y., & Puji Ardiningsih, N. (2016). Aktivitas antibakteri gram positif dan negatif dari ekstrak dan fraksi daun nipah (*Nypa fruticans* Wurmb.) asal pesisir sungai kakap Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(4).
- Greenwood, D., Finch, R., Davey, P., & Wilcox, M. (1995). Antibiotics, susceptibility (Sensitivity) test antimicrobial and chemotherapy.
- Hidayat, L. N. R., Riyadi, S. A., Gustiani, S., & Dwicahya, A. (2022). Aplikasi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) sebagai zat antibakteri pada kain kapas dengan variasi metode. *Indonesian Journal of Industrial Research*, 37(1), 453247.
- Jamil, A. S., Adi, B., Prasaja, B., Ariani, A., & Hardi, Z. (2014). Aktivitas antimikroba ekstrak biji *Nigella sativa* terhadap viabilitas bakteri probiotik secara in vitro dan in vivo. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 11(2).
- Kusmiyati, K., & agustini, N. W. S. (2007). Antibacterial activity assay from *Porphyridium cruentum* microalgae. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 8(1).
- Ningtyas, E. A. E. (2012). Aktivasi pemakaian jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap respons imun pada gigi yang mengalami inflamasi. *STOMATOGNATHIC- Jurnal Kedokteran Gigi*, 9(1), 48-53.
- Oktavianti, I. D., Husin, U. A. dan Harun, Y. Z. (2020). Uji efektivitas antibakteri habbatussauda (*Nigella sativa*) ekstrak etanol terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi* secara in vitro. *Prosiding Pendidikan Dokter*, 201-204.
- Patel, J. D., Shrivastava, A. K., & Kumar, V. (2009). Evaluation of some medicinal plants used in traditional wound healing preparations for antibacterial property against some pathogenic bacteria. *Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research*, 1(1), 012-007.
- Perdana, R., & Setyawati, T. (2016). Uji In-Vitro Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* di Kota Palu. *Medika Tadulako: Jurnal Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan*, 3(1), 11-22.
- Pratiwi, I., Azis, S., & Kusumastuti, E. (2018). Rasionalitas Penggunaan Antibiotik Ciprofloxacin pada Penderita Demam Tifoid. *Biomedical Journal of Indonesia*, 4(2), 46-51.
- Putra, N. (2015). Effect antimicrobacterial *Nigella sativa* for inhibits growth of bacteria. *Majority*, 4(4).
- Rahmasari, V., & Lestari, K. (2018). Review Artikel: Manajemen Terapi Demam Tifoid: Kajian Terapi Farmakologis dan Non Farmakologis. *Farmaka*, 16(1), 184-195.
- Safitri, E., Hidayati, N. A., & Hertati, R. (2019). Prevalensi bakteri *Salmonella* pada ayam potong yang dijual di pasar tradisional pangkalpinang. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, 4(1), 25-30.
- Juwita, S., Hartoyo, E., & Budiarti, L. Y. (2013). Pola Sensitivitas In Vitro *Salmonella Typhi* Terhadap Antibiotik Kloramfenikol, Amoksisilin, Dan Kotrimoksazol: Di Bagian Anak RSUD Ulin Banjarmasin Periode Mei-September 2012. *Berkala kedokteran*, 9(1), 25-34.
- Ulya, N., & Widyawati, D. I. (2020). Gambaran Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Bakteri *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi* pada Penderita Demam Tifoid. *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya*, 1(2), 40-46.
- Widianingsih, M., & Dewi, E. N. (2017). Identifikasi salmonella spp. pada feses sapi perah di Dusun Judeg Desa Babadan, Kediri. *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 7(3).
- Widjaja, C. H. (2020). Manfaat jintan hitam (*nigella sativa*) sebagai antiinflamasi dan pereda nyeri pada osteoarthritis (OA). *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 9(2), 901-907.