UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SAMBANG DARAH (Excoecaria cochinchinensis Lour) FRAKSI N-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR TERHADAP BAKTERI Escherichia coli

M.Nizar, Adela Febri Monika Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Palembang

ABSTRAK

Daun Sambang Darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid sebagai antibakteri. Secara tradisional dimanfaatkan masyarakat untuk mengobati diare dan disentri. Salah satu bakteri penyebab diare adalah bakteri Escherichia coli. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Penyarian daun sambang darah dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dilanjutkan fraksinasi dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan air. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi terhadap Escherichia coli. Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah n-heksan, etil asetat, dan air. Berdasarkan hasil penelitian, fraksi n-heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri. Pada fraksi etil asetat pada konsentrasi 0,78% b/v, 1,56% b/v, 3,12% b/v, 6,25% b/v, 12,5% b/v, 25% b/v, dan 50% b/v menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter hambat masing-masing 7,1 mm, 7,3 mm, 7,65 mm, 8,1 mm, 8,75 mm, 9,35 mm, dan 12,25 mm. Untuk fraksi air hanya pada konsentrasi 6,25% b/v, 12,5% b/v dan 25% b/v, dan 50% b/v yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter hambat masing-masing 7,15 mm, 7,6 mm, 8,15 mm, dan 10,25 mm. Hasil identifikasi menunjukkan fraksi etil asetat mengandung senyawa tanin dan terpenoid. Sedangkan fraksi air mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid.

PENDAHULUAN

Penyakit diare merupakan salah satu masalah kesehatan di negara berkembang, terutama di Indonesia baik di perkotaan maupun di pedesaan. Diare adalah suatu penyakit yang ditandai dengan perubahan bentuk dan konsistensi tinja yang lembek sampai mencair dan bertambahnya frekuensi buang air besar yang lebih dari biasa, yaitu 3 kali atau lebih dalam sehari yang mungkin dapat disertai dengan muntah atau tinja yang berdarah. Faktor penyebab terjadinya diare antara lain infeksi kuman penyebab diare (Escherichia coli, Shigella sp., Salmonella sp., Vibrio cholera dan lain-lain), gangguan pencernaan, alergi makanan, stress, virus serta efek samping obat-obatan (Katarina, 2014).

Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2007, prevalensi klinis diare di Indonesia mencapai 9.0% dan angka kematian di semua umur sebesar 3.5%. Dilihat dari distribusi umur balita penderita diare di tahun 2010 didapatkan prevalensi terbesar adalah kelompok umur 6–11 bulan yaitu sebesar 21,65%, lalu kelompok umur 12-17 bulan sebesar 14,43%, kelompok umur 24-29 bulan sebesar 12,37%, sedangkan prevalensi terkecil pada kelompok umur 54–59 bulan yaitu 2,06%. Kelompok umur 6–19 bulan pada saat diberikan makanan pendamping ASI (Kemenkes, 2011).

Berdasarkan data pola kuman dan resistensi dari isolat urin pada tiga tempat berbeda di Indonesia yaitu Jakarta, Bandung dan Surabaya jumlah kuman yang didapat dari periode 2002-2004, infeksi oleh *E.coli* merupakan yang terbanyak ditemukan yaitu sebanyak 38.85% diikuti dengan *Klebsiella sp* 16.63% dan *Pseudomonas sp* 14.95% (Firizki, 2014).

Sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) merupakan tanaman

yang termasuk kedalam famili Euphorbiaceae. Tanaman ini mengandung senyawa kimia berupa tanin, saponin, asam behenat, triterpenoid eksokarol dan silosterol (Herbie, 2015). Daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) juga mengandung flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid (Prayoga, 2013). Tanaman ini dimanfaatkan untuk mengobati batuk berdarah, muntah darah, luka berdarah dan diuretik (Herbie, 2015). Disamping itu, juga digunakan pada gangguan pencernaan seperti diare dan disentri (Dalimartha, 2003).

Berdasarkan hasil penelitian Ayu Budaya (2006) dengan judul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Sambang Darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) terhadap Shigella dysenteriae Secara Dilusi didapatkan hasil bahwa ekstrak etanolik daun sambang darah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap Shigella dysenteria. Selain itu, berdasarkan penelitian P. Leelapornpisid dkk (2005) dengan judul Antimicrobial Activity of Herbal Extracts on Staphylococcus aureus and Propionibacterium acnes didapatkan hasil bahwa ekstrak etanolik daun sambang darah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap Staphylococcus aureus and Propionibacterium acnes.

Sehubungan dengan latar belakang tersebut dan belum adanya penelitian secara ilmiah mengenai aktivitas antibakteri ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) fraksi n-heksan, fraksi etil-asetat dan fraksi air terhadap bakteri Escherichia coli, maka telah dilakukan penelitian dengan judul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambang Darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) Fraksi n-Heksan,

Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Terhadap Bakteri Escherichia coli".

TUJUAN PENELITIAN

Tujuan Umum

Menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) fraksi n-heksan, fraksi etil-asetat dan fraksi air terhadap aktivitas bakteri Escherichia coli.

Tujuan Khusus

- Untuk mengukur diameter zona hambat antibakteri berbagai konsentrasi ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) fraksi n-heksan, fraksi etil-asetat dan fraksi air terhadap aktivitas bakteri Escherichia coli.
- Untuk membandingkan kekuatan aktivitas antibakteri ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) fraksi n-heksan, fraksi etil-asetat dan fraksi air dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif.

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium dengan cara mengukur diameter daya hambat aktivitas antibakteri dan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) terhadap bakteri Escherichia coli.

B. Objek Penelitian

Objek penelitian adalah daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) yang diambil dalam keadaan segar pada pagi hari dari halaman rumah Ibu X di Pakjo Palembang.

C. Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini antara lain pisau, timbangan, botol maserasi, seperangkat alat destilasi, pipet tetes, jarum ose, lampu spiritus, kertas cakram, cawan petri, lemari pendingin, autoclave, dry heat oven, pinset, kertas saring, beaker glass, jangka sorong, kapas, gelas ukur, corong pisah, vial dan plat tetes.

D. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour), etanol, aquadest, etil asetat, n-heksan, media Mueller Hinton Agar (MHA), biakan bakteri Escherichia coli, disk kloramfenikol, logam Mg, FeCl₃, Asam klorida dan NaCl.

E. Prosedur Kerja

1. Persiapan Bahan Simplisia

Bahan berupa daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) yang telah dicuci bersih dengan air mengalir, dirajang halus lalu dikeringanginkan, setelah simplisia kering lalu ditimbang sebanyak 800 gram.

2. Ekstraksi dari Sambang Darah (Excoecaria cochinchinensis Lour)

Simplisia yang telah dikeringanginkan sebanyak ± 1000 gram dimasukkan ke dalam botol maserasi berwarna coklat. Tambahkan etanol hasil destilasi ke dalam botol masesrasi hingga seluruh simplisia terendam dan terdapat satu lapisan diatasnya. Botol ditutup rapat dan dibiarkan selama 3 hari ditempat yang terlindung dari cahaya, sambil di kocok tiga kali sehari selama 15 menit. Kemudian ekstrak dari daun sambang darah dipisahkan dengan penyaring. Ulangi

perendaman dengan etanol hasil destilasi sampai diperoleh hasil ekstraksi yang sempurna. Lalu saring sehingga memperoleh ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour).

3. Fraksinasi

Ekstrak kental sebanyak 100 gram dilarutkan ke dalam 100 ml air hingga seluruh ekstrak larut sempurna. Selanjutnya difraksinasi menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan air dengan jumlah pelarut yang digunakan untuk fraksinasi sebanding dengan jumlah air yang ditambahkan ke dalam ekstrak etanol dengan perbandingan 1:1. Fraksi nheksan, etil asetat dan air yang diperoleh kemudian ditampung dan tiap-tiap fraksi dicuci dengan NaCl jenuh kemudian pekatkan dengan destilasi vakum, Fraksi nheksan, etil asetat dan air yang diperoleh diukur beratnya kemudian diuji kandungan kimianya dan diuji aktivitas antibakterinya.

4. Pengukuran Diameter Hambat

a. Pembuatan Kertas Cakram

Cakram disediakan dengan cara membeli kertas cakram yang siap pakai, kemudian kertas cakram disterilkan dahulu dalam autoclave pada suhu 121°C selama 2 jam sebelum digunakan

b. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Bahan-bahan Mueller Hinton Agar (MHA) yang terdiri dari beef bifusion 2 gr, bacio amino acid 17,5 gr, starch 1,5 gr dan bacio agar 17 gr dilarutkan dalam 1 liter aquadest, lalu ukur pH sampai 7,4. Kemudian disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Bagikan dalam cawan petri steril dengan ketebalan 3-4 mm. Kemudian disterilkan dalam autoclave.

c. Pembuatan suspensi Escherichia coli

Ambil media ± 150 ml dari media Mueller Hinton Agar (MHA) yang telah dibuat dan dipanaskan pada suhu 37-40°C, kemudian ditambahkan biakan murni bakteri sebanyak 3-5 koloni kedalam media.

d. Pengukuran Diameter Zona Hambat

Media Mueller Hinton Agar (MHA) dituangkan kedalam cawan petri masingmasing 10 ml dan biarkan hingga memadat sebagai lapisan dasar. Kemudian ambil suspensi bakteri Escherichia coli, torehkan pada permukaan media Mueller Hinton Agar (MHA) secara merata dan biarkan mengering. Masing-masing kertas cakram dicelupkan kedalam berbagai konsentrasi masing-masing fraksi, yaitu fraksi nheksan, fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak daun sambang darah kemudian dikeringanginkan. Sebagai kontrol positif digunakan cakram kloramfenikol dan sebagai kontrol negatif digunakan cakram yang dicelupkan ke dalam pelarut n-heksan. etil asetat dan aquadest. Masing-masing cakram dimasukkan ke media yang ada bakterinya. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi lakukan pengamatan dan pengukuran terhadap zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada proses pembuatan ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) digunakan simplisia kering sebanyak 800 gram dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 130 gram dan didapatkan rendemen sebesar 16,25 %... Dari ekstrak tersebut dilakukan fraksinasi sebanyak 100 gram menjadi tiga bagian sesuai dengan kepolarannya masingmasing yaitu fraksi n-heksan sebanyak 7,0 gram, fraksi etil asetat sebanyak 5,78 gram dan fraksi air sebanyak 45 gram. Setelah itu dilakukan identifikasi terhadap masingmasing fraksi dan diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Identifikasi Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Sambang Darah (Excoecaria cochinchinensis Lour)

No.	Senyawa Aktif	Pereaksi	Fraksi n- Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air	Keterangan
1	Flavonoid	HCl pekat + logam Mg		E	+	(+) warna merah
2	Saponin	Air	1.51	<u>.</u>	+	(+) buih yang stabil
3	Tanin	FeCl3	-	+	+	(+) warna hitam kebiruan/hijau
4	Terpenoid	HNO _{3(p)} + CH ₃ COOH Anhidrat	+	+	+	(+) warna merah

Keterangan:

(-) : Reaksi Positif (+) : Reaksi Negatif

Dari ketiga fraksi tersebut dapat disimpulakan bahwa fraksi n-heksan positif mengandung terpenoid, fraksi etil asetat positif mengandung tanin dan terpenoid dan fraksi air positif mengandung flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid.

Setelah dilakukan uji identifikasi senyawa aktif kemudian dilakukan

penetapan diameter hambat antibakteri menggunakan metode difusi agar. Sebagai mikroba uji digunakan bakteri *Escherichia* coli yang disuspensikan pada media *Muller Hinton Agar* (MHA). Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dilakukan pengenceran dari konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%. Uji antibakteri dilakukan dua kali pengulangan

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambang Darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) Fraksi n-Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Terhadap Bakteri Escherichia coli selama 1 x 24 Jam.

3.7	D-L IT::	TZ	Diameter Zona Hambat (mm) 1 x 24 jam				
No.	Bahan Uji	Konsentrasi (%)	P1	P2	Rata-Rata		
		50%	0	0	0		
	Fraksi n-Heksan	25%	0	0	0		
829	Daun Sambang	12,5%	0	0	0		
1.	Darah (Excoecaria	6,25%	0	0	0		
	cochinchinensis Lour)	3,12%	0	0	0		
		1,56%	0	0	0		
		0,78%	0	0	0		
	Fraksi Etil Asetat Daun Sambang Darah (Excoecaria cochinchinensis Lour)	50%	12,4	12,1	12,25		
		25%	9,3	9,4	9,35		
100		12,5%	8,5	9	8,75		
2.		6,25%	7,9	8,3	8,1		
		3,12%	7,6	7,7	7,65		
		1,56%	7,2	7,4	7,3		
		0,78%	7	7,2	7,1		
		50%	9,7	10,8	10,25		
	Fraksi Air Daun	25%	8,3	8	8,15		
	Sambang Darah	12,5%	7,9	7,3	7,6		
3.	(Excoecaria	6,25%	7,3	7	7,15		
	cochinchinensis	3,12%	0	0	0		
	Lour)	1,56%	0	0	0		
		0,78%	0	0	0		
4.	Kontrol Positif	Kloramfenikol	30,4				
5.	Kontrol Negatif I	n-Heksan	0				
6.	Kontrol Negatif II	Etil Asetat	0				
7.	Kontrol Negatif III	Aquadest	0				

Ketentuan kekuatan antibakteri menurut Davis dan Stout (1971), jika daerah hambatan lebih dari 20 mm (sangat kuat), daerah hambatan 10-20 mm (kuat), 5-10 mm (sedang), dan hambatan kurang dari 5 mm (lemah).

Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol sebagai kontrol positif dan pelarut n-heksan, etil asetat dan air sebagi kontrol negatif. Hal ini dilakukan apakah pelarut pada ekstrak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri atau tidak. Kloramfenikol sebagai kontrol positif menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter hambatan 30,4 mm. Sedangkan pelarut yang digunakan yaitu n-heksan, etil asetat dan air tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap Escherichia coli.

Fraksi n-Heksan pada perlakuan 1 dan perlakuan 2 dengan konsetrasi 0,78% b/v, 1,56% b/v, 3,12% b/v, 6,25% b/v, 12,5% b/v, 25% b/v, dan 50% b/v, sama

sekali tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri Escherichia coli. Hal ini kemungkinan besar terjadi dikarenakan sedikitnya kadar senyawasenyawa kimia pada fraksi n-Heksan daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) sehingga tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli.

Fraksi etil asetat pada perlakuan 1 dan perlakuan 2 dengan konsetrasi 0,78% b/v, 1,56% b/v, 3,12% b/v, 6,25% b/v, 12,5% b/v, 25% b/v, dan 50% b/v, menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan ratarata diameter hambatannya dimulai dari 7,1 mm, 7,3 mm, 7,65 mm, 8,1 mm, 8,75 mm, 9,35 mm dan 12,25 mm. Berdasarkan hasil tersebut bahwa fraksi etil asetat daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) pada konsentrasi 0,78% b/v, 1,56% b/v, 3,12% b/v, 6,25% b/v,12,5% b/v, dan 25% b/v memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli dengan kategori sedang. Sedangkan pada konsentrasi 50% b/v memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli dengan kategori kuat.

Fraksi air pada perlakuan 1 dan perlakuan 2 dengan konsetrasi 0,78% b/v, 1,56% b/v, 3,12% b/v, 6,25% b/v, 12,5% b/v, 25% b/v, dan 50% b/v, menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan ratarata diameter hambatannya dimulai dari 7,15 mm, 7,6 mm, 8,15 mm, dan 10,25 mm. Berdasarkan hasil tersebut bahwa fraksi air daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) pada konsentrasi 6,25 % b/v, 12,5% b/v dan 25% b/v mulai terlihat memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli dengan kategori sedang. Sedangkan pada konsentrasi 50% b/v memiliki daya hambat

terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia* coli dengan kategori kuat.

Fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang lebih baik terhadap bakteri Escherichia coli dibandingkan fraksi air. Hal ini terlihat bahwa fraksi etil asetat pada konsentrasi 0,78% b/v masih memberikan daya hambat sebesar 7,1 mm sedangkan pada fraksi air konsentrasi 0,78% b/v sampai konsentrasi 3,12% b/v tidak memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli.

Dari hasil diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula kemampuan aktivitas antibakteri fraksi tersebut yang terlihat diameter hambat semakin besar. Kloramfenikol sebagai kontrol positif menunjukkan daerah hambat sebesar 30,4 mm. Kontrol positif memiliki diameter hambat yang lebih besar dibandingkan fraksi n-heksan. fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour). Sedangkan nheksan, etil asetat dan air sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya daerah hambat sehingga tidak mempunyai pengaruh terhadap aktivitas antibakteri.

Dari tabel 1 hasil identifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) menunjukkan senyawa flavonoid dan saponin terkandung pada fraksi air, senyawa tanin terkandung pada fraksi etil asetat dan air, dan terpenoid terkandung pada fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air. Senyawa kimia tersebut yang menyebabkan fraksi etil asetat dan air mampu menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli. Sedangkan fraksi n-heksan tidak terlihat adanya daya hambat. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh senyawa kimia yang

terkandung dalam fraksi ini hanya sedikit dan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli.

KESIMPULAN

- 1. Fraksi n-heksan dari daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) pada konsentrasi 0,78% b/v sampai 50% b/v tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Pada fraksi etil asetat kosentrasi 0,78% b/v sampai 50% b/v menunjukkan aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter hambat 7,1 mm, 7,3 mm, 7,65 mm, 8,1 mm, 8,75 mm, 9,35 mm, dan 12,25 mm. Sedangkan pada fraksi air konsentrasi 0,78% b/v sampai 3,12% b/v tidak menunjukkan aktivitas antibakteri dan konsentrasi 6,25% b/v sampai 50% b/v menunjukkan aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter hambat 7,15 mm, 7,6 mm, 8,15 mm, dan 10,25 mm.
- 2. Kategori kekuatan antibakteri ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) fraksi etil asetat pada konsentrasi 0,78% b/v sampai 25% b/v tergolong daya hambat sedang dan pada konsentrasi 50% b/v tergolong daya hambat kuat. Sedangkan pada fraksi air konsentrasi 6,25% b/v sampai 25% b/v tergolong daya hambat sedang dan pada konsentrasi 50% b/v tergolong daya hambat kuat.
- Kekuatan daya hambat kloramfenikol sebagai kontrol positif lebih besar daripada daya hambat fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) yaitu 30,4 mm.

SARAN

- Agar dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi daun sambang darah (Excoecaria cochinchinensis Lour) sebagai tanaman berkhasiat obat lainnya.
- Sebaiknya dalam pembuatan media agar dan penanaman bakteri mahasiswa farmasi diikutsertakan dalam proses pembuatan supaya dapat memastikan sesuai atau tidak prosedur yang dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A., 2004. Sensitivitas Salmonella typhimurium terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L. Vol. 1(1), hal 31-38.
- Budaya, A., 2006. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Sambang Darah (Excoecaria bicolor Hassk) Terhadap Shigella dysenteriae ATCC 9361 secara Dilusi. http://adln.lib.unair.ac.id/files/disk1/772/gdl hub-gdl-s1-2015-widjajajen-38554-17.-daft-a.pdfdiakses 14 November 2015.
- Dalimartha, S., 2003. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 3. Trubus Agriwidya, Jakarta, Indonesia, hal: 119-121.
- Davis, W.W., dan T.R. Stout, 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. Applied Microbiology. 22: 659-665.
- Firizki, F., 2014, Pattern sensitivity of Escherichia coli and Klebsiella Sp. To antibiotic sefalosporin period of year 2008-2013 in Bandar Lampung. http://juke.kedokteran.unila.ac.id diakses 19 Februari 2016
- Herbie, T., 2015. Kitab Tanaman Berkhasiat Obat, Jilid 1. Octopus Publishing House, Yogyakarta, Indonesia, hal. 182-184.
- Katarina, S., 2014. Sehat Dengan Herbal Warisan Nenek Moyang, Jilid 1. Media Ilmu Abadi,

- Jakarta, Indonesia, hal 46-48.
- Kemenkes RI., 2011. Buletin jendeta data dan informasi kesehatan: situasi diare di Indonesia. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI
- Leelapornpisid, P., S.Chansakao, and T.Ittiwittayawat, 2005. Antimicrobial Activity of Herbal Extracts on Staphylococcus aureus and Propionibacterium acnes. http://www.actahort.org/books/679/679_11. htm diakses 14 November 2015.
- Prayoga, G., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah. http://lib.ui.ac.id/file?file=pdf/abstrak-20331263.pdf diakses 15 November 2015.
- Sudigdoadi, Sunarjati, 2015. Mekanisme Timbulnya Resistensi Antibiotik pada Infeksi Bakteri. http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2015/09/ mekanisme-timbulnya-resistensi-antibiotik-pada-infeksi-bakteri.pdf diakses 18 November 2015.

- Suharyono, 2008. Diare akut Klinik dan Laboratorik. Rhineka Cipta, Jakarta, Indonesia.
- Sujana, W.I.A., 2014. Profil Penderita Diare Akut
 Balit di Rumah Sakit Gotong Royong
 Surabaya Tahun 2014.
 http://repository.wima.ac.id/1269/2/Bab%
 201.pdf di akses 18 November 2015.
- Syamsuhidayat, SS., Hutapea, JR., 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jakarta: Depkes. Hal 250-251.
- Yuli, 2010. Buku Ajar Praktikum Mikrobiologi. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, Indonesia, hal 25.
- Yuniarti, Titin, 2008. Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional. MedPress, Yogyakarta, Indonesia, hal 348.