

**UJI KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM MENIRAN HIJAU
(*Phyllanthus niruri L*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

Meti Kusmiati, Farid Abdul Rosid
Prodi Analisis Kesehatan STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

ABSTRAK

Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri L*) digunakan sebagai obat diuretikum kuat dan rebusan daun meniran digunakan sebagai salah satu tanaman obat diare kronis sedangkan akar tanaman ini digunakan sebagai obat mulas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui konsentrasi minimum meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*. Pengujian dilakukan secara eksperimen terhadap sampel *Infusum* meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*). Metode yang digunakan yaitu metode Kirby Bauer. *Infusum* meniran hijau dalam berbagai konsentrasi diteteskan sebanyak 10 µl kedalam kertas cakram yang sudah disimpan dalam cawan petri yang berisi media Mueller-Hinton dan suspensi bakteri *Escherichia coli*. Setelah diinkubasi 37°C selama 24 jam, dilihat ada tidaknya zona hambat yang berupa daerah jernih disekitar kertas cakram. Diameter zona hambat merupakan hasil pengurangan diameter zona keseluruhan oleh diameter kertas cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi *Infusum* meniran hijau 36%, 37%, 38% dan 39% terdapat zona jernih yang berarti pada konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan pada konsentrasi *infusum* 31%, 32%, 33%, 34%, 35% tidak terdapat zona jernih yang menandakan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini menyimpulkan konsentrasi hambat minimum *Infusum* meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 36 %.

Kata kunci : *Infusum*, Meniran hijau, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Meniran plants (*Phyllanthus niruri L*) is used as strong diuretics medicine and meniran leaf decoction is used as one of chronic diarrhea medicinal plants, whereas the root of this plant is used as heartburn medicine. The aim of this research is to find out the minimum concentration of green meniran (*Phyllanthus niruri L*) that can obstruct *Escherichia coli* bacteria. The test was conducted experimentally towards the sample of green meniran infusum. The method used is Kirby Bauer method. Green meniran infusum in several concentrations were dropped 10 µl into the disc paper that has been saved in the petri dish which consisted of Mueller Hinton media and *Escherichia coli* bacteria suspension. After being incubated under 37°C for 24 hours, it was seen whether or not there was an inhibition zone in the form of transparent area around disc paper. The diameter of inhibition zone is the result of reduction between total zone diameter and paper disc diameter. The research result shows that there is a transparent area in the concentration of green meniran infusum in the degree of 36%, 37%, 38% and 39% which means that those levels of concentration can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria. Whereas, in the infusum concentration of 31%, 32%, 33%, 34% and 35% there is no transparent area which signs the inhibition of the growth of *Escherichia coli* bacteria. This research concluded that the minimum inhibitory concentration of green meniran infusum towards *Escherichia coli* bacteria is 36%.

Keyword : *Infusum*, Green Meniran, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri L*) digunakan sebagai obat diuretikum kuat dan rebusan daun meniran digunakan sebagai salah satu tanaman obat diare kronis. Sedangkan akar tanaman ini digunakan sebagai obat mulas (Seno Sastroamidjojo, 2001 :

182). Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) mempunyai rasa agak asam dan bersifat sejuk. Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam meniran diantaranya saponin, flavonoid, filantin, hipofilantin, kalium, dammar dan tannin. Efek farmakologis meniran diantaranya peluruh seni (diuretik), pembersih hati, antiradang, pereda

demam, peluruh dahak, peluruh haid, penerang penglihatan, penambah nafsu makan, astringent dan digunakan sebagai obat dysuria, gonorrhoea, sifilis, nyeri ginjal, demam, tetanus, pembersih darah, kencing batu dan diare, sedangkan akar meniran untuk nyeri perut dan sakit gigi (Arief Hariana, 2011 : 125).

E. coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Smith Keary, 1988 ; Jawetz *et al.*, 1995). *E. coli* adalah anggota flora normal usus, keberadaannya menguntungkan karena berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. Namun *Escherichia coli* dapat menjadi patogen bila keberadaannya meningkat atau berada di luar usus (Jawetz *et al.*, 1995).

Penyakit diare masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang penting karena merupakan penyumbang utama ketiga angka kesakitan dan kematian anak di berbagai negara termasuk Indonesia. Diperkirakan lebih dari 1,3 miliar serangan dan 3,2 juta kematian per tahun pada balita disebabkan oleh diare. Setap anak mengalami serangan diare rata-rata 3,3 kali setiap tahun. Lebih kurang 80% kematian terjadi pada anak berusia kurang dari dua tahun (Widoyono, 2005 : 145).

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan berupa *Autoclave*, Inkubator, Ose bulat, Oven, *Hot plate*, Cawan petri, thermometer, Klinipet, jangka sorong, kaca bengkok, *Dry Sterilisator*, dan alat gelas rutin lainnya.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah BaCl_2 1%, H_2SO_4 1%, NaCl

FISIOLOGIS 0,85%, Strain murni *Escherichia coli*, Meniran hijau, Media Mueller-Hinton.

PROSEDUR PENELITIAN

Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini seperti alat-alat gelas, botol, pipa, pipet, yang sudah bersih tidak disterilkan dengan *autoclave*, karena barang-barang tersebut akan tetap basah sehabis sterilisasi. Alat-alat dari gelas dimasukan dalam oven kering selama 2-3 jam pada suhu 160 -170°C (Dwidjoseputro 1990 : 43). Pipet ukur disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit (Soemarno, 1984 : 43). Medium yang di gunakan sterilkan dengan menggunakan *autoclave* selama 15-20 menit dengan suhu 121 °C (Dwidjoseputro 1990 : 41).

Pembuatan Standar Mc Farland

- Pipet menggunakan pipet steril 9,9 ml H_2SO_4 1% dan 0,1 ml BaCl_2 1% (0,1 ml = 100 μl).
- Kedua larutan tersebut dicampurkan kedalam tabung reaksi steril.
(Gerard Bonang dan Enggar Koeswardono, 1997 : 190-191).

Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli*

- Dibuat suspensi bakteri yang kekeruhannya sama dengan standar Mc Farland, dengan cara memasukan 10 ml NaCl 0,85 % steril kedalam tabung reaksi steril, lalu masukkan koloni bakteri strain murni *Escherichia coli* ke tabung tersebut menggunakan ose bulat. Gunakan alat Turbidimetri untuk mengukur kekeruhan Mc Farland I (Gerard Bonang dan Enggar Koeswardono, 1997 : 190-191).
- Dari suspensi yang telah dibuat diatas diperkirakan terdapat kepadatan bakteri 3×10^8 /ml, kemudian dilakukan pengenceran

sehingga didapat jumlah bakteri 3×10^5 /ml.

Pembuatan simplisia Herba Meniran

(Didik Gunawan dan Sri Mulyani, 2004 : 12-14)

- a. Diambil tanaman meniran hijau dengan ketinggian 40-50 cm dari tanah tempat tumbuh. Kemudian dilakukan sortasi basah sampai diperoleh meniran yang segar.
- b. Setelah itu herba meniran hijau yang segar dicuci dengan menggunakan air sampai bersih. Untuk air yang digunakan harus memperhatikan kemungkinan pencemaran yang diakibatkan oleh adanya mikroba. Herba meniran hijau yang sudah dicuci kemudian dirajang kasar.
- c. Lalu setelah itu dikeringkan dalam oven pada suhu kurang dari 60 °C selama 15 menit.
- d. Kemudian setelah kering, dilakukan sortasi kering.
- e. Setelah sortasi kering selesai, maka simplisia di simpan dalam wadah

bersih dan tertutup pada suhu kamar.

Pembuatan infusum Herba meniran hijau, (Ditjen POM, 2000 : 5-6)

- a. Herba meniran hijau yang telah dikeringkan di blender, kemudian diayak.
- b. Ditimbang sebanyak 100 gram serbuk herba meniran lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia.
- c. Dipipet *aquadest* sebanyak 100 ml ke dalam gelas kimia tersebut, dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit terhitung suhu 90°C sambil diaduk lalu ditutup dengan gelas arloji.
- d. Selagi panas disaring, sehingga didapat konsentrasi 100%. Kemudian Stock konsentrasi 100% dibuat berbagai konsentrasi 10% - 100%.

Pengenceran

Dibuat pengenceran dari stock 100% infusum meniran dengan menggunakan *aquadest* sehingga didapat berbagai pengenceran sesuai tabel di bawah ini :

Tabel 1
Pengenceran Infusum meniran

Konsentrasi	Volume Aquadest (ml)	Volume infusum meniran
10%	9ml	1ml
20%	8ml	2ml
30%	7ml	3ml
40%	6ml	4ml
50%	5ml	5ml
60%	4ml	6ml
70%	3ml	7ml
80%	2ml	8ml
90%	1ml	9ml
100%	-	10ml

Keterangan :

Untuk *aquadest* disterilkan terlebih dahulu menggunakan *autoclave* selama 15 menit terhitung suhu 121°C.

Uji sensitivitas antibakteri metode Kirby Bauer (Lay, bibiana W, 1994 :

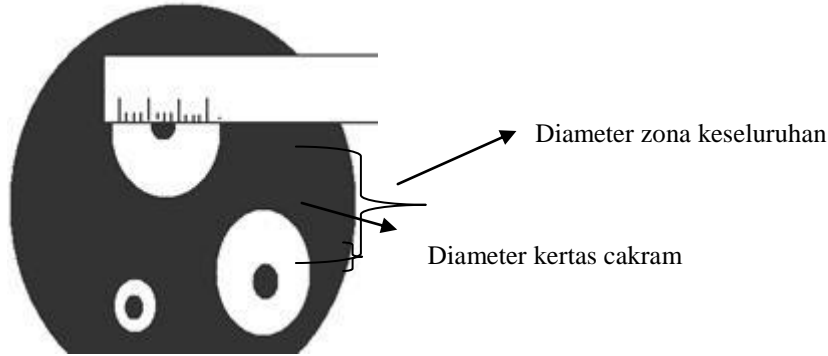
71-72 dan Soemarno 1987 : 123) :

- a. Dituangkan media Muller-Hinton suhu 45°C yang masih cair sebanyak 12 ml (ketebalan ± 4-5cm) kedalam cawan petri yang steril. Goyangkan dan biarkan membeku.

- b. Suspensi bakteri *Escherichia coli* dari kepadatan 3×10^5 bakteri/ml, masukkan 10 µl kedalam cawan petri yang berisi media Muller Hinton yang telah membeku, lalu disebar dengan batang kaca bengkok secara aseptis. lempengan agar dibiarkan mengering selama 5 menit.

- c. Kemudian diletakan kertas cakram diatas media Muller Hinton yang telah ditanam suspensi bakteri.
- d. Ditetaskan infusum meniran hijau berbagai konsentrasi pada kertas cakram sebanyak 10 µl menggunakan klinipet.
- e. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- f. Dilakukan juga kontrol positif (media Muller Hinton + suspensi bakteri) dan kontrol negatif (media Muller Hinton).
- g. Diamati adanya daerah hambatan berupa zona jernih disekitar kertas cakram.
- h. Perhitungan diameter zona hambatan :

Diameter zona hambatan (mm) = diameter zona keseluruhan – diameter kertas cakram.



Gambar 1
Perhitungan diameter zona hambatan

HASIL ANALISIS DAN PEMBAHASAN
 Uji konsentrasi hambat minimum meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*)

terhadap bakteri *Escherichia coli* pada media Mueller Hinton, diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 2
Uji konsentrasi hambat minimum meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) terhadap *Escherichia coli* pada Media Mueller Hinton konsentrasi 10% - 100%

No	Konsentrasi Meniran (%)	Diameter kertas cakram	Diameter zona keseluruhan	Diameter zona hambat	Keterangan
1.	10%	6 mm	6 mm	0 mm	Tidak ada zona jernih, Tidak menghambat pertumbuhan bakteri
2.	20%	6 mm	6 mm	0 mm	Tidak ada zona jernih, Tidak menghambat pertumbuhan bakteri
3.	30%	6 mm	6 mm	0 mm	Tidak ada zona jernih, Tidak menghambat pertumbuhan bakteri
4.	40%	6 mm	7 mm	1 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri
5.	50%	6 mm	8 mm	2 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri
6.	60%	6 mm	8,5 mm	2,5 mm	Terdapat zona jernih,

					Menghambat pertumbuhan bakteri
7.	70%	6 mm	9,5 mm	3,5 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri
8.	80%	6 mm	11 mm	5 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri
9.	90%	6 mm	12 mm	6 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri
10.	100%	6 mm	12,5 mm	6,5 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri

Berdasarkan hasil penelitian diatas dapat dilihat pada tabel 2 pada pengenceran *Infusum* meniran hijau konsentrasi 40% terdapat zona jernih yang menandai adanya daya hambat terhadap *Escherichia coli*. Setelah diamati ternyata konsentrasi 100 % menghasilkan zona jernih paling besar

yang menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi *Infusum* meniran hijau maka semakin besar pula diameter zona jernih atau daya hambat, hal tersebut dikarenakan adanya zat aktif yang terdapat pada meniran hijau yang semakin tinggi maka semakin tinggi pula daya hambatnya.

Tabel 3
Uji kosentrasi hambat minimum meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) terhadap *Escherichia coli* pada Media Mueller Hinton konsentrasi 31% - 39%

No	Konsentrasi Meniran (%)	Diameter kertas cakram	Diameter zona keseluruhan	Diameter zona hambat	Keterangan
1.	31%	6 mm	6 mm	0 mm	Tidak ada zona jernih, Tidak menghambat pertumbuhan bakteri
2.	32%	6 mm	6 mm	0 mm	Tidak ada zona jernih, Tidak menghambat pertumbuhan bakteri
3.	33%	6 mm	6 mm	0 mm	Tidak ada zona jernih, Tidak menghambat pertumbuhan bakteri
4.	34%	6 mm	6 mm	0 mm	Tidak ada zona jernih, Tidak menghambat pertumbuhan bakteri
5.	35%	6 mm	6 mm	0 mm	Tidak ada zona jernih, Tidak menghambat pertumbuhan bakteri
6.	36%	6 mm	6,50 mm	0,50 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri
7.	37%	6 mm	6,60 mm	0,60 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri
8.	38%	6 mm	6,80 mm	0,80 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri
9.	39%	6 mm	6,90 mm	0,90 mm	Terdapat zona jernih, Menghambat pertumbuhan bakteri

					bakteri
--	--	--	--	--	---------

Setelah diamati ternyata zona hambat terkecil yang dapat menghambat pada konsentrasi 10% - 100% adalah di konsentrasi 40% maka dilakukan kembali pengenceran dari 31%-39% (Tabel 3) dan ternyata pada konsentrasi 36% terdapat zona jernih, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pengenceran terkecil atau hambat minimum meniran hijau terhadap *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 36% dengan diameter 0,50 mm. Zona

hambat yang terjadi sangat kecil, dikarenakan pembuatan konsentrasinya yang kecil juga kadar zat aktif yang terkandung di dalam meniran hijau yaitu tannin kurang dari 5 %.

Untuk membandingkan efektifitas meniran hijau dengan antibiotik dilakukan juga uji resistensi terhadap antibiotik Bacitracin, Methicilin, Nalidixic Acid dan Gentamisin. Hasil dapat dilihat pada tabel 4 sebagai berikut :

Tabel 4
Uji resistensi antibiotik terhadap Bakteri *Escherichia coli* pada Media Mueller Hinton dengan kerapatan bakteri 3×10^5

No	Jenis Antibiotik	Diameter kertas cakram	Diameter zona keseluruhan	Diameter zona hambat	Keterangan
1	Bacitracin	6 mm	7 mm	1 mm	Resisten
2	Methicilin	6 mm	7,5 mm	1,5 mm	Resisten
3	Nalidixic acid	6 mm	16 mm	10 mm	Resisten
4	Gentamycin	6 mm	9,5 mm	3,5 mm	Resisten

Dari kedua tabel diatas dapat dilihat bahwa *infusum* meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* mulai dari pengenceran 36%, karena dari pengenceran 35 % tidak terbentuk zona jernih.

Selain itu dilakukan pula kontrol positif dan negatif yang terdiri dari:

- a. Kontrol positif (media Media Mueller – Hinton + suspensi bakteri) : terdapat pertumbuhan bakteri
- b. Kontrol negatif (media Media Mueller – Hinton + *Infusum* meniran hijau) : tidak terdapat pertumbuhan bakteri.

Dari hasil penelitian, dapat diketahui bahwa konsentrasi hambat minimum meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 36 % dengan diameter zona hambatan sebesar 0,50 mm. Konsentrasi 36 % dikatakan sebagai konsentrasi pengenceran terkecil yang dapat

menghambat karena pada pengenceran tersebut mulai terdapat zona jernih, sedangkan dari konsentrasi 35 % kebawah tidak terdapat zona jernih di sekitar kertas cakram.

Zona hambat atau zona jernih yang terbentuk pada masing - masing pengenceran berbeda, semakin besar konsentrasi pengenceran maka semakin tinggi pula zona hambat yang dihasilkan, hal tersebut disebabkan karena tingginya kandungan senyawa yang terdapat pada tumbuhan meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) yang bersifat antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat dalam tumbuhan tersebut yaitu tannin.

Tannin biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat-kuning yang larut dalam air (terutama air panas). Senyawa tannin ini mengurai atau rusak pada suhu 210°C (Mulyono, 1997 : 35). Sehingga, pada *infusum* tersebut

disterilisasi menggunakan autoclave sampai suhu 121°C, bertujuan agar terbebas dari mikroorganisme yang dapat mengkontaminasi tanpa merusak zat aktif sebagai antibakteri yaitu tannin. Tannin bekerja dengan cara mengendapkan lapisan peptidoglikan yang merupakan protein dari dinding sel bakteri. Pengendapan protein pada dinding sel tersebut menyebabkan dinding sel rusak dan akhirnya sel bakteri mati. Adanya sel bakteri yang mati menyebabkan zona bening di sekitar kertas cakram, yang menandakan terdapat proses lisisnya bakteri oleh zat aktif tannin.

Pada penelitian ini tanaman yang digunakan yaitu berupa meniran hijau, selain karena varietas ini banyak tumbuh liar di berbagai daerah juga sangat mudah didapat dan tumbuh sepanjang musim. Digunakan meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) karena kandungan kimia dan zat aktifnya lebih besar dibandingkan meniran merah (*Phyllanthus urinaria L*) (Agus Kardinan dan Fauzi Rahmat, 2004 : 20).

Pemeriksaan uji antibakteri ini menggunakan tanaman meniran yang dibuat dalam bentuk *infusum*. *Infusum* adalah sediaan obat cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit (Didik Gunawan dan Sri Mulyani, 2004 : 132).

Metode pemeriksaan yang digunakan adalah metode Kirby Bauer, karena cara ini adalah cara paling banyak dipakai untuk menentukan kepekaan kuman sesuai dengan standar WHO (Gerard Bonang dkk, 1982 : 71).

Metode Kirby Bauer dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah kemampuan dan kecepatan penyebaran (*difusi*) zat antimikroba ke dalam medium serta interaksinya dengan mikroba, jumlah mikroba yang diinokulasikan, kecepatan pertumbuhan mikroba dan derajat sensitivitas mikroba terhadap zat antimikroba (James G.

Cappucino dan Natalie Sherman, 1987 : 248-250).

Kepadatan bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah 3×10^5 , karena menurut Suharyono (1986 : 86) dengan kepadatan tersebut bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare. Pernyataan tersebut ditegaskan kembali dengan adanya teori yang menyatakan bahwa keasaman lambung menjaga jumlah mikroorganisme semiminal mungkin $10^3 - 10^5$ /g isi lambung. (Jawetz, Melnick dan Adelberg's 2005 : 28)

Untuk mengukur kepadatan atau kekeruhan bakteri, menggunakan alat turbidimetri. Standar bakteri yang digunakan yaitu standar Mc-Farland, dengan dasar penentuannya adalah jika seberkas sinar dilakukan pada suatu suspensi mikroba, maka semakin pekat (keruh) suspensi tersebut semakin besar pula intensitas sinar yang diabsorpsi dan dibandingkan dengan standar mikroba yang telah diketahui jumlahnya tiap mililiter, maka dapat diketahui jumlah mikroba tersebut tiap mililiter (Departemen Kesehatan, 1989 : 59).

Pada awalnya konsentrasi pengenceran yang dilakukan pada penelitian dimulai dari 10% -100 %, dan dari konsentrasi pengenceran 40 % - 100 % terbentuk zona jernih yang menunjukkan adanya zona jernih yang merupakan hambatan terhadap bakteri *Escherichia coli* sedangkan pada pengenceran 10% - 30% tidak terdapat zona jernih. Untuk mendapatkan kadar hambat minimum dilakukan pengenceran mulai dari 31% - 39% dari konsentrasi stock 40% yang telah dibuat, dan diperoleh pada konsentrasi 36% terbentuk zona jernih disekitar kertas cakram, dengan demikian infusum meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* mulai dari konsentrasi 36%.

KESIMPULAN

Hasil penelitian uji konsentrasi hambat minimum meniran hijau (*Phyllanthus*

niruri L) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada media Muller – Hinton, diperoleh hambat minimum *Infusum* meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 36%.

REKOMENDASI

Merekomendasikan melakukan penelitian uji konsentrasi hambat minimum *infusum* meniran hijau (*Phyllanthus niruri L*) terhadap bakteri lainnya, selain *Escherichia coli* misalnya *Staphylococcus aureus* atau *Bacillus subtilis*.

DAFTAR PUSTAKA

Agus Kardinan dan Fauzi Rahmat Kusuma, *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh alami*, Jakarta : Agro Media Pustaka, 2004.

Ditjen POM, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan RI, 2000.

Arief Hariana, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Jakarta : Penebar Swadaya, 2011.

Didik Gunawan dan Sri Mulyani, *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) jilid 1*, Jakarta : Penebar Swadaya, 2004.

Dwidjoseputro, *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, Malang : Djambatan, 1990.

Jawetz, Melnick, & Anelberg's, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 20, Jakarta : EGC, 2005.

Lay, Bibiana W, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, Jakarta : Raja Grafindo Persada, 1994.

Seno Sastroamidjojo, *Obat asli Indonesia*, Jakarta : Dian Rakyat, 2001.

Soemarno, *Penuntun Praktikum Bakteriologi*, Yogyakarta : CV.Karyono, 1987.

Suharyono, *Diare Akut*, Jakarta Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia, 1986.

Widoyono, *Penyakit Tropis*, Jakarta : Erlangga, 200

