

Uji aktivitas antibakteri ekstrak herbal terhadap bakteri *Escherichia coli*

Nurina Rahmawati, Edhy Sudjarwo dan Eko Widodo

Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145 Jawa Timur

Nurie_chrysalis@yahoo.com

ABSTRACT : Several herbs have been evaluated as feed additive for chicken, namely tumeric, white tumeric, javanese ginger and black ginger. The purpose of the research was to examine antibacterial activity (inhibition diameter zone and minimum inhibition concentration test) on several herbs extract toward *Escherichia coli*. In the experiment, there were 6 treatments namely aquadest 100% (A0), antibiotic tetracycline (A1), tumeric extract (A2), white tumeric extract (A3), javanese ginger extract (A4) and black ginger extract (A5) in response to inhibit *Escherichia coli*. Variables measured were inhibition diameter zone and minimum inhibition concentration test against challenge on *Escherichia coli*. The experiment was arranged in one way nested ANOVA based on completely randomized design and if there were different effects among variables it would be tested by Duncan's multiple range test. The result showed that the use of turmeric extract gave highly significant inhibition diameter zone for *Escherichia coli* ($P < 0,01$), further test indicated that as low as 50% (w/v) concentration of turmeric extract was enable to show as minimum concentration of inhibition against *Escherichia coli*. The conclusion of this research was among the herbs, selected turmeric extract showed the highest inhibition diameter zone if challance against *Escherichia coli* with minimum inhibition concentration of 50% (w/v).

Keywords : herbs extract, *Escherichia coli*, inhibition

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan hasil pertanian dan tanaman herbal. Sumber daya alam yang dimiliki telah memberikan manfaat dalam kehidupan sehari-hari disamping sebagai bahan makanan juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Penelitian mengenai tanaman – tanaman herbal yang memiliki aktivitas antibakteri telah dilakukan untuk mengurangi efek samping penggunaan bahan kimia dalam produk hasil pertanian dan peternakan. Tanaman herbal tersebut diantaranya kunyit, kunyit putih, temulawak dan temuireng.

Kunyit mengandung senyawa aktif yaitu kurkumin yang berperan sebagai antitumor, antibakteri dan antioksidan (Joe, 2004). Kurkumin berwarna kuning alami dan termasuk kelompok senyawa polifenol yang dapat menyebabkan denaturasi protein dan merusak membran sel (Pandiangan, 2000). Kunyit putih merupakan tanaman herbal yang potensial dan banyak diteliti untuk pengobatan kanker (Wijayanti, dkk., 2011). Temulawak memiliki khasiat sebagai antiinflamasi, antioksidan dan antitumor. Kurkumin yang terdapat dalam rimpang temulawak efektif sebagai antibakteri *Escherichia coli*

dengan konsentrasi 100% dalam uji Kadar Hambat Minimum (KHM) (Ananggia dan Murnah, 2007). Rimpang temuireng merupakan salah satu tanaman tradisional yang sering digunakan untuk menambah nafsu makan dan memacu pertumbuhan (Puspitawati, 2006). Temuireng memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Hastuti dan Widodo, 2012).

Berdasarkan latar belakang diatas diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri dari tanaman herbal tersebut terhadap bakteri dalam tubuh ternak. *Escherichia coli* merupakan bakteri terbanyak yang terdapat di saluran pencernaan ternak terutama unggas dengan jumlah $10^4 - 10^5$ CFU/ml (Spring, 1997). *E. coli* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi dalam saluran pencernaan. Pada beberapa kasus, *e. coli* adalah bakteri yang paling banyak menimbulkan infeksi saluran cerna. Tingginya angka kejadian ini disebabkan karena keadaan higienis makanan, minuman dan air yang dikonsumsi kurang baik, serta dipengaruhi oleh higienis lingkungan sekitar (Octaviani, 2007).

MATERI DAN METODE

Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian terdiri dari peralatan dan bahan. Peralatan yang digunakan ialah peralatan uji antibakteri seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, inkubator, timbangan ohaus, mikropipet 1 ml, autoklaf, *waterbath* dan *magnetic stirrer*. Bahan yang digunakan adalah akuades, ekstrak kunyit, kunyit putih, temulawak, temuireng, bakteri *Escherichia coli* dan media uji

antibakteri Mueller Hinton Agar (MHA).

Metode

Metode penelitian adalah metode laboratorium dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 6 perlakuan dan 4 ulangan sebagai berikut :

- A0 : Akuades
- A1 : Antibiotik (tetrachlor)
- A2 : Ekstrak kunyit
- A3 : Ekstrak kunyit putih
- A4 : Ekstrak temulawak
- A5 : Ekstrak temuireng

Prosedur uji diameter zona hambat

Persiapan bahan dimulai dengan menyiapkan ekstrak herbal (kunyit, kunyit putih, temulawak dan temuireng). Prosedur selanjutnya ialah sterilisasi alat dan media MHA. Alat dan media yang digunakan uji antibakteri disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ dalam waktu 30 menit. Selanjutnya uji diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode difusi sumur agar. Langkah berikutnya adalah mengikuti prosedur kerja uji diameter zona hambat dan dilanjutkan dengan uji KHM.

Prosedur uji KHM

Langkah-langkah uji KHM adalah:

1. Menyiapkan larutan ekstrak sebanyak 1 g kemudian diencerkan dengan aquades 10 ml dan ditambahkan larutan tween 80 sebanyak $100\text{ }\mu\text{L}$ (b/v).
2. Menyiapkan tabung reaksi sebanyak 7 tabung terdiri dari 6 tabung untuk perlakuan dan 1 tabung untuk kontrol.
3. Tabung reaksi 1 diisi 1 ml bakteri uji dengan konsentrasi 10^6 bakteri/ml tanpa pencampuran

- dengan ekstrak herbal. Tabung ini sebagai kontrol bakteri (*original inoculum*).
- Memasukkan media NB sebanyak 1 ml kedalam tabung 2 sampai dengan 7. Kemudian larutan ekstrak dimasukkan pada tabung 2 dan 3 sebanyak 1 ml.
 - Pada tabung 3 dicampur hingga rata, kemudian dipindahkan sebanyak 1 ml kedalam tabung 4 dan diencerkan secara berseri sampai tabung ke-7.
 - Pada tabung ke-7 setelah tercampur rata, larutan dibuang sebanyak 1 ml.
 - Pada tabung 3 - 7 ditambahkan bakteri sebanyak 1 ml dari 10^8 bakteri/ml yang diencerkan 100 kali sehingga konsentrasinya menjadi 10^6 bakteri/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan konsentrasi K(+) 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125% .
 - Seluruh tabung reaksi tersebut dikubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan keseluruhan tabung terhadap kejernihan tabung dengan melihat kontrol positif dan negatif.
 - Mengambil tabung yang memperlihatkan kejernihan dan ditanam dengan metode *streak plate*. Prosedur yang dilakukan ialah :
 - Memasukkan media NA yang telah dimasak kedalam

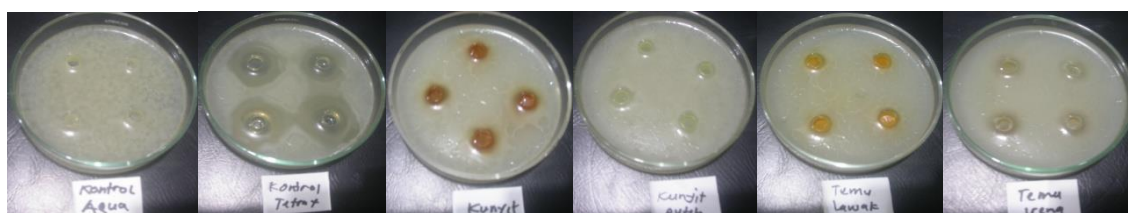
cawan petri \pm 22 ml dan dibiarkan sampai padat.

- mengambil inokulan pada tabung
- menggoreskan pada cawan petri.
- menginkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- mengamati pertumbuhan bakteri untuk hasil KHM

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh ekstrak herbal terhadap zona hambat bakteri *Escherichia coli*

Ekstrak herbal merupakan nutrisi yang diberikan kepada ternak yang berasal dari bahan – bahan alami dan berfungsi meningkatkan penampilan produksi dan kesehatan ternak. Ekstrak herbal yang digunakan dalam penelitian ialah kunyit, kunyit putih, temulawak dan temu ireng. Keempat bahan ini digunakan karena memiliki zat aktif berupa kurkumin yang berfungsi sebagai antibakteri. Antibakteri merupakan senyawa kimia khas yang dihasilkan oleh organisme hidup dalam konsentrasi rendah serta dapat menghambat proses penting didalam suatu mikroorganisme (Siswandono dan Soekardjo 1995 dalam Paramitasari, 2009). Hasil penelitian pengaruh ekstrak herbal terhadap zona hambat bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji diameter zona hambat

Berdasarkan Gambar 1 dapat dijelaskan bahwa diameter zona hambat terluas adalah antibiotik tetrachlor (tetrasiklin + eritromisin) dan ekstrak herbal yang terbaik adalah kunyit. Diameter zona hambat terlihat dari zona

bening di sekitar lubang. Jika semakin luas zona bening maka semakin besar suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Nilai diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh ekstrak herbal terhadap diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)
A0	0±0 ^a
A1	10,97±0,03 ^f
A2	5,64±0,25 ^e
A3	2,01±0,01 ^b
A4	3,94±0,01 ^d
A5	3,1±0,01 ^c

Keterangan : Notasi yang berbeda (a, b, c, d, e dan f) pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01)

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak herbal kunyit memiliki diameter zona hambat tertinggi dibandingkan dengan ekstrak kunyit putih, temulawak dan temuireng. Hal ini menandakan bahwa aktivitas antibakteri kunyit paling tinggi dibandingkan ekstrak herbal lain meskipun nilainya masih rendah dibandingkan antibiotik. Uji diameter zona hambat dilakukan dengan metode difusi sumuran yaitu membuat lubang pada media Muller Hinton Agar yang sudah padat dan diinokulasi dengan bakteri *Escherichia coli*. Kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak herbal yang diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007). Davis and Stout (1971) menyatakan diameter zona bening 10–20 mm memiliki daya hambat kuat, diameter zona bening 5–10 mm mempunyai daya hambat sedang dan diameter zona bening <5 mm memiliki daya hambat lemah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak herbal dalam berbagai

level memberikan pengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli*. Hasil Uji Jarak Berganda Duncan's diketahui bahwa diameter zona hambat ekstrak herbal tertinggi ditunjukkan pada perlakuan A1 (10,97±0,03 mm) dan terendah A0 (0±0 mm).

Menurut hasil penelitian ekstrak herbal yang efektif dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* ialah kunyit yaitu sebesar 5,64±0,25 mm. Menurut Davis and Stout (1971), diameter zona bening antara 0–5 mm mempunyai daya hambat sedang. Hal ini dikarenakan kunyit memiliki senyawa aktif kurkumin yang mempunyai aktivitas antibakteri berspektrum luas yaitu antibakteri yang aktif terhadap berbagai jenis bakteri gram positif dan gram negatif, antivirus, dan penginduksi apoptosis sel (antitumor) (Bermawie, 2006). Hal ini menunjukkan bahwa kunyit memiliki potensi yang tinggi sebagai pengganti antibiotik. Cikrici *et al.*, (2008) menambahkan bahwa aktivitas antibakteri kurkumin dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* penyebab penyakit diare akut.

Proses penghambatan kurkumin terhadap aktivitas bakteri *Escherichia coli* dengan cara menghambat aktivitas enzim siklooksigenase-2 (cox-2) yang mengubah asam arakhidonat menjadi prostaglandin yang menyebabkan timbulnya rasa sakit. Kurkumin merupakan senyawa fenolik yang juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mendenaturasi dan merusak membran sel sehingga proses metabolisme sel akan terganggu.

Menurut Pelczar dan Chan (1988), perbedaan ketebalan dinding sel bakteri non patogen dan patogen berpengaruh terhadap rekasi yang disebabkan oleh senyawa fenolik. Dinding sel bakteri non patogen akan mengalami dehidrasi sehingga pori-pori akan mengecil. Hal ini menyebabkan daya rembes dinding sel dan fungsi membran menurun, sedangkan pada bakteri patogen lipid akan terekstrasi dari dinding sel sehingga pori – pori mengembang. Hal ini menyebabkan daya rembes sel dan fungsi membran meningkat oleh penyerapan yang tidak terkontrol sehingga merusak komponen dinding selnya.

Menurut Soeparno (1998) dalam Paramitasari (2009), gangguan pembentukan dinding sel disebabkan oleh akumulasi komponen lipofilat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi dinding sel. Akumulasi tersebut terjadi karena senyawa antimikroba dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah molekul-molekul fenol yang terdapat pada minyak *thyme* kebanyakan berbentuk tak terdisosiasi, lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein dan dapat melarut baik pada fase lipid dari membran bakteri. Reaksi dengan membran sel terjadi karena komponen bioaktif dapat mengganggu dan mempengaruhi integrasi membran

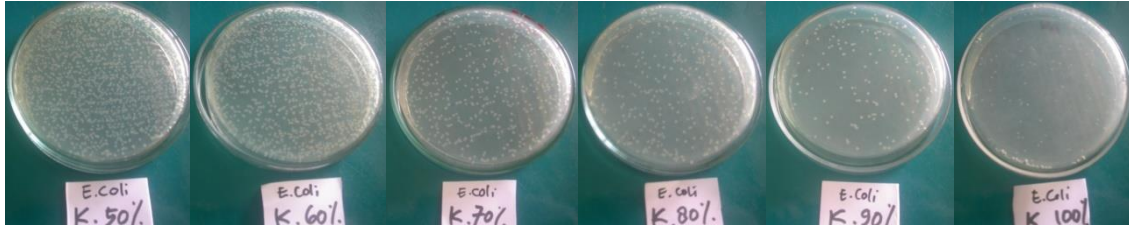
sitoplasma yang mengakibatkan kebocoran intraseluler sehingga menyebabkan lisis sel, denaturasi protein dan menghambat ikatan ATP ase pada membran sel. Selain itu, cara yang digunakan adalah dengan menginaktivasi enzim. Mekanisme tersebut menunjukkan kerja enzim akan mengganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba sehingga mengakibatkan enzim akan memerlukan energi dalam jumlah besar untuk mempertahankan kelangsungan aktivitasnya. Akibatnya energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang dan aktivitas mikroba menjadi terhambat. Pertumbuhan bakteri akan berhenti jika kondisi tersebut berlangsung secara terus menerus. Khunaifi (2010) menyatakan bahwa didalam sel terdapat enzim dan protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme. Beberapa zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia seperti logam-logam berat, golongan tembaga, perak dan air raksa. Senyawa logam berat lainnya umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi yang relatif rendah. Logam-logam tersebut akan mengikat gugus enzim sulfhidril yang berakibat terhadap perubahan protein yang terbentuk. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme sel.

Meskipun demikian, diameter zona hambat kunyit lebih rendah dibandingkan dengan zona hambat antibiotik yaitu $10,97 \pm 0,03$ mm. Hal ini karena antibiotik berasal dari mikroorganisme atau zat yang dihasilkan secara sintesis kimia. Mujiasih (2001) menyatakan bahwa antibiotik berasal dari zat sama yang sebagian atau seluruhnya dibuat dengan cara sintesis kimia dimana dengan konsentrasi rendah mampu menghambat bahkan membunuh mikroorganisme.

Pengaruh ekstrak kunyit terhadap kadar hambat minimum bakteri *Escherichia coli*

Hasil penelitian mengenai pengaruh penggunaan ekstrak kunyit terhadap KHM bakteri *Escherichia coli*

menunjukkan bahwa ekstrak kunyit (K) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Gambar 2). Penghambatan ini terdapat pada konsentrasi 50-100%.



Gambar 2. Hasil uji KHM

Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula daya hambat

terhadap bakteri *Escherichia coli*. Gambar tersebut diperjelas dengan data hasil penelitian pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh penggunaan kunyit terhadap kadar hambat minimum bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi kunyit	Ulangan				CFU/Plate
	I	II	III	IV	
50%	-	-	-	-	$2,7 \times 10^7$
60%	-	-	-	-	$2,3 \times 10^6$
70%	-	-	-	-	$2,2 \times 10^6$
80%	-	-	-	-	$1,4 \times 10^5$
90%	-	-	-	-	$9,3 \times 10^4$
100%	-	-	-	-	$4,6 \times 10^3$

Keterangan :

- + : keruh (tidak menghambat)
- : jernih (menghambat)

Pada uji diameter zona hambat diketahui bahwa kunyit memiliki diameter zona hambat tertinggi yaitu $5,64 \pm 0,25$ mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Uji KHM bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal suatu bahan yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* seperti yang tercantum pada Tabel 2. Penghambatan aktivitas bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan metode dilusi tabung yaitu senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi.

Kemudian masing – masing konsentrasi ditambahkan bakteri *Escherichia coli* dalam media *nutrient broth*. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Pratiwi (2008) menyatakan bahwa larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC).

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 2, ekstrak kunyit dapat

menghambat aktivitas bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi minimum 50% dan konsentrasi tertinggi 100%. Pandiangan (2000) menyatakan bahwa ekstrak kunyit pada konsentrasi 50% mampu menghambat aktivitas bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi suatu zat antibakteri semakin tinggi daya antibakterinya. Pandiangan (2000) menyatakan bakteri akan terbunuh lebih cepat apabila konsentrasi zat antibakteri lebih tinggi. Kurkumin pada kunyit mempunyai aktivitas antibakteri berspektrum luas yaitu antibakteri yang aktif terhadap berbagai jenis bakteri gram positif dan gram negatif, antivirus dan penginduksi apoptosis sel (antitumor) (Bermawie, 2006). Pada konsentrasi 50% jumlah bakteri *Escherichia coli* mengalami penurunan $0,4 \times 10^7$ dan pada konsentrasi minimum 50% zat aktif dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan pada konsentrasi 100% jumlah bakteri *Escherichia coli* menurun sebanyak $1,5 \times 10^4$.

KESIMPULAN

Ekstrak kunyit memiliki diameter zona hambat tertinggi dibandingkan ekstrak kunyit putih, temulawak dan temuireng yaitu 5,64 mm dengan kadar hambat minimum 50%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananggia S. A. dan Murnah. 2007. Profil kromatogram dan aktivitas antibakterial ekstrak etanol rimpang temulawak terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* in vitro. <http://eprints.undip.ac.id/22669/1/Sarlin.pdf>. Diakses tanggal 25 Agustus 2013.
- Bermawie, N. 2006. Mengatasi demam berdarah dengan tanaman obat. Warta penelitian dan pengembangan pertanian 28: 6-8.
- Cikrici, S., E. Mozioglu, H. Yilmaz. 2008. Biological activity of curcuminoids from *Curcuma longa*. *J Nat Prod* 2:19-24.
- Davis, W. W. dan T. R. Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiology* 22: 659-665.
- Hastuti, D. K. A. K dan S. Widodo. 2012. Komposisi kimia ekstrak etanol petroleum eter dan aktivitas antibakteri rimpang temuireng (*Curcuma aeruginosa*) dari Indonesia. http://repository.library.Uksw.edu/bitstream/handle/123456789/3065/PROS_Dewi%20KAKH2c%20Slamet%20W_Komposisi%20Ekstrak%20Petroleum_Full%20text.pdf?sequence=2 Diakses 30 Oktober 2013.
- Joe. 2004. Senyawa kimia yang terdapat pada rempah-rempah. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Khunaifi, M. 2010. Uji aktivitas antibakteri daun binahong terhadap bakteri *Staphyococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Fakultas Sanis dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Kusmayati dan N. W. R. Agustini. 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga (*Porphyridium cruentum*). http://biodiversitas.mipa.uns.ac.id/D/D0801/D0801_10.pdf. Diakses tanggal 20 Nopember 2012.
- Mujiasih. 2001. Performan ayam broiler yang diberi antibiotik zinc bacitracin, probiotik *Bacillus sp* dan berbagai level *Saccaromyces cereviceae* dalam

- ransumnya. http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/13198/D01mu_j_abstract.pdf?sequence=2. Diakses tanggal 3 September 2013.
- Octaviani, R. 2007. Profil kromatogram dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) terhadap bakteri *Escherichia coli* in vitro. <http://eprints.undip.ac.id/22663/1/Rima.pdf>. Diakses tanggal 20 Nopember 2012.
- Pandiangan, M. 2000. Stabilitas antimikroba ekstrak temulawak terhadap mikroba patogen. <http://www.scribd.com/doc/51851120/Jurnal-Antimikroba-Ekstrak-Temulawak-Terhadap-Bakteri-Patogen>. Diakses 30 Oktober 2013.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1988. Dasar-dasar mikrobiologi. Terjemahan Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi farmasi. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Puspitawati, H. 2006. Bolus serbuk temu hitam untuk meningkatkan kualitas susu sapi perah. <http://www.LibUnair.Surabaya.net>. Diakses tanggal 8 Februari 2012.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. Kimia Medical. Airlangga University Press. Surabaya.
- Dalam Paramitasari, I. 2009. Aplikasi substrat antimikroba dari bakteri asam laktat sebagai biopreservatif pada bakso daging sapi dengan penyimpanan dingin. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Ternak. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian. Bogor.
- Soeparno. 1998. Ilmu dan teknologi daging. Cetakan ke-5. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Dalam Paramitasari, I. 2009. Aplikasi substrat antimikroba dari bakteri asam laktat sebagai biopreservatif pada bakso daging sapi dengan penyimpanan dingin. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Ternak. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian. Bogor.
- Spring P. 1997. Understanding the development of the avian gastrointestinal microflora: An essential key for developing competitive exclusion products. Proc. Alltech 11th Annual Asian Pacific Lecture-Tour 149 – 160.
- Wijayanti, A. D., A. F. Maria dan S. N. Khasanah. 2011. Pengaruh pemberian ekstrak kunyit putih (*Curcuma alba*) terhadap nilai Hb (Hemoglobin), PCV (Packed Cell Volume), jumlah dan diferensial leukosit tikus yang terpapar asap sepeda motor. <http://jurnal.ugm.ac.id/index.php/jsv/article/viewFile/279/166>. Diakses tanggal 2 November 2013.