

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol
Rimpang Jeringau Merah (*Acorus calamus* Linn.)
terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri* secara *in vitro*

Restu Wulandari¹, Muhamad Agus Wibowo², Delima Fajar Liana³

¹ Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

² Program Studi Kimia, FMIPA UNTAN

³ Departemen Mikrobiologi Medik, Program Studi Pendidikan Dokter, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. Shigellosis adalah suatu infeksi akut pada kolon yang disebabkan oleh bakteri shigella sp yang merupakan bakteri gram negatif famili Enterobacteriaceae, nonmotil, dan berbentuk kokobasil. Jeringau merah (*Acorus calamus* Linn.) dari famili *Acoraceae* merupakan tanaman tropis di Indonesia. Data empiris menunjukkan bagian rimpang dari tanaman jeringau merah dapat digunakan untuk mengobati diare dan beberapa penelitian telah melaporkan bahwa rimpang jeringau merah memiliki aktivitas antibakteri. **Metodologi.** Skrining fitokimia menggunakan metode uji kualitatif. Rimpang jeringau merah diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol. Penelitian ini menggunakan sepuluh konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Kontrol positif menggunakan siprofloksasin 5µg dan kontrol negatif menggunakan pelarut metanol. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer terhadap *Shigella flexneri*. **Hasil.** Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol rimpang jeringau merah yaitu minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Ekstrak metanol rimpang jeringau merah memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri* dosis efektif pada konsentrasi ekstrak 100%. **Kesimpulan.** Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol rimpang jeringau merah yaitu minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Ekstrak metanol rimpang jeringau merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella flexneri*.

Kata Kunci: antibakteri, ekstrak metanol rimpang jeringau merah, *Shigella flexneri*

Background: Shigellosis is an acute infection of the colon caused by the bacterium shigella sp. which is a gram-negative, bacterial family of Enterobacteriaceae, nonmotil, and cocobasille. Jeringau merah (*Acorus calamus* Linn.) from the family of Acoraceae, is a tropical plant in Indonesia. Empirical data shows the rhizome of jeringau merah can be used to treat diarrhea and some studies have reported that jeringau merah rhizomes possess an antibacterial activity. **Method.** Qualitative test was used in the phytochemical screening. Jeringau merah rhizomes were extracted by maceration using methanol. This study used various concentration consist of 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100%. Siprofloxacacin 5 µg/ disc was used as positive control while methanol was used as negative control. The antibacterial activity test was carried out with Kirby-Bauer disc diffusion method against *Shigella flexneri*. **Result.** Secondary metabolites which are contained in the methanol extract of jeringau merah rhizomes are essential oils, alkaloids, saponins, tannins, and triterpenoids. The methanol extract of jeringau merah rhizomes possesses an activity against *Shigella flexneri* with effective concentration in the concentration of 100%. **Conclusion.** Secondary metabolites which are contained in the methanol extract of jeringau merah rhizomes are essential oils, alkaloids, saponins, tannins, and triterpenoids. The methanol extract of jeringau merah rhizomes possesses a antibacterial activity against *Shigella flexneri*.

Keywords: Antibacterial, methanol extract of jeringau merah rhizomes, *Shigella flexneri*

LATAR BELAKANG

Shigellosis atau sering disebut sebagai disentri basiler merupakan suatu infeksi akut pada usus besar yang disebabkan oleh kuman dari genus *Shigella*. Di dunia sekurangnya terdapat 200 juta kasus dan 650.000 kematian terjadi akibat disentri basiler pada anak-anak dibawah umur 5 tahun.¹ Di Kalimantan Barat prevalensi disentri basiler sebesar 4% dengan 7089 kasus dan merupakan penyakit ke 6 dari 10 penyakit yang paling sering terjadi di puskesmas diseluruh kabupaten di Kalimantan Barat pada tahun 2011.²

Penyebab shigellosis adalah kuman genus *Shigella* yang terdiri dari 4 spesies yaitu *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*), *Shigella flexneri* (*S. flexneri*), *Shigella boydii*

(*S. boydii*) dan *Shigella sonnei* (*S. sonnei*).¹ Sebanyak 612 anak-anak yang mengalami diare di pusat-pusat kesehatan di Jakarta Selatan selama Februari 2005 hingga September 2007 diidentifikasi bahwa 57 orang disebabkan oleh *Shigella* dan didapatkan bahwa terbanyak disebabkan oleh *Shigella flexneri* sebesar 63,2%.³

Jeringau merah termasuk dalam famili *Acoraceae* yang merupakan keluarga tanaman keladi atau talas-talasan yang tidak berkayu dan hidup di tempat berair (semi-akuatik), dan merupakan salah satu tanaman endemik Kalimantan Barat.⁴ Ada beberapa tempat di wilayah Kalimantan Barat sebagai habitat asli jeringau merah seperti Sanggau, Ngabang, dan Kapuas Hulu dengan karakteristik seperti jeringau biasa tetapi memiliki pangkal daun

berwarna merah serta rimpang berwarna coklat kemerahan.⁵ Beberapa penelitian telah membuktikan khasiat dari rimpang jeringau merah, infusa rimpang jeringau merah potensial menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thyposa*.⁴ Informasi ilmiah tentang penggunaan rimpang jeringau merah menunjukkan air rebusan (infusa) rimpang tumbuhan endemik tersebut dapat digunakan untuk mengobati diare dan penyakit kulit. Berdasarkan pendekatan ini, dilakukanlah penelitian untuk mencari aktivitas antibakteri dari rimpang jeringau merah terhadap salah satu penyebab diare berdarah yaitu, *Shigella flexneri*.

METODE

Bahan

Ekstrak rimpang jeringau merah, akuades, aluminium foil.

Siprofloksasin 5 µg/disk (sebagai kontrol positif), metanol, spiritus, pereaksi Mayer, kalium iodida (KI), magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, besi (III) klorida (FeCl₃) 1%, pereaksi Molisch, asam asetat (CH₃COOH) glasial, H₂SO₄ pekat, kloroform (CH₃Cl), Media *Salmonella Shigella agar* (SS), Media *Mueller-Hinton agar* (MHA), Standar Mc. Farland no. 0,5, Karbol kristal ungu, lugol, air fukhsin, dan larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%.

Alat

Mikropipet, autoklaf, cawan petri, kertas saring *whatman*, tabung reaksi, gelas beaker, gelas ukur, batang pengaduk, desikator, *hot plate*, *magnetic stirrer*, cawan porselen, timbangan digital, spektrofotometer UV-Vis Varian Cary 50, *rotary evaporator*, jarum inokulasi lurus, jarum ose, lampu

spiritus, korek api, gunting, *cotton bud*, kain kasa, mortal, *oven*, inkubator, *blender*, vortex, kertas aluminium foil, *clean pack*, kertas label, plastik wayang, botol vial, kertas sampul coklat, pinset, pisau, sikat, dan jangka sorong.

Bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur murni *Shigella flexneri* yang didapat dari koleksi Unit Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Rimpang jeringau merah (*Acorus calamus* Linn.) diambil dari kebun budidaya di jalan Ahmad Yani, kota Pontianak pada pagi hari. Rimpang disortasi dari bagian yang rusak dan kemudian dicuci dengan air PDAM hingga bersih. Rimpang

kemudian dikeringkan untuk dibuat simplisia. Simplisia yang telah disortasi kemudian dihaluskan menggunakan blender.^{9,10}

Pembuatan Ekstrak

Hasil dari pengolahan dan perubahan bentuk bahan baku rimpang jeringau merah ini didapatkan sampel sebanyak 1.359 gram. Pengeringan sampel dilakukan di oven dengan suhu 40°C selama 48 jam. Sortasi kering kemudian dilakukan pada simplisia dengan cara memilih dan membersihkan bahan baku yang telah mengalami proses pengeringan dari kotoran-kotoran dan debu. Dari hasil proses pengeringan, didapatkan simplisia sebanyak 315,7 gram. Setelah diperkecil ukurannya, simplisia disimpan di dalam plastik bening kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang rapat dan diletakkan di

tempat yang sejuk dan tidak terpapar sinar matahari secara langsung. Perlakuan tersebut diberikan agar kestabilan simplisia terjaga dan menghindari kontaminasi. Simplisia rimpang jeringau merah dimaserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 20 x 24 jam menggunakan wadah botol kaca gelap. Maserasi menggunakan sampel potongan-potongan kecil simplisia rimpang jeringau merah sebanyak 315,7 gram yang dilarutkan dengan pelarut metanol sebanyak 600 ml. Selama maserasi, pengadukan dilakukan dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 200-250 rotasi/menit. Maserat yang telah diperoleh dari proses maserasi ditampung dalam wadah sebelum diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Penguapan dengan *rotary evaporator* dilakukan pada suhu 48°C dengan

kecepatan putaran 60 rotasi per menit (rpm); dimana hal ini sesuai dengan prinsip kerja dari *rotary evaporator* yakni untuk memisahkan ekstrak dari cairan penyarinya maka penguapan dilakukan pada suhu $\pm 5-10^{\circ}\text{C}$ di bawah titik didih pelarut oleh karena adanya penurunan tekanan.^{19,20,21}

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 1 ml HCL 2 N. Masing-masing 1 ml filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1, 2, dan 3. Kemudian ditambahkan dua tetes pereaksi Mayer pada tabung 1, dua tetes pereaksi Wagner pada tabung reaksi 2, dan dua tetes pereaksi Dragendorff pada tabung reaksi 3. Hasil positif ditandai dengan terbentuk endapan putih pada tabung reaksi 1, endapan

coklat pada tabung reaksi 2, dan endapan *orange* pada tabung reaksi 3. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{7,8,9,19}

Pemeriksaan Flavonoid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan serbuk magnesium sebanyak 1 gram dan 1 ml larutan asam klorida pekat. Perubahan warna larutan menjadi warna kuning menandakan adanya flavonoid. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{7,8,9,12}

Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 1 ml asam asetat (CH_3COOH) glasial dan 1 ml larutan asam sulfat (H_2SO_4) pekat. Jika warna larutan berubah menjadi biru atau ungu, menandakan adanya

kelompok senyawa steroid, jika warna larutan berubah menjadi merah menunjukkan adanya kelompok senyawa terpenoid. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{7,8,9}

Pemeriksaan Saponin

Sampel sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air, setelah itu dikocok dengan kuat selama 10 menit lalu dibiarkan selama 10 menit. Buih/busa yang terbentuk dan bertahan lebih dari 10 menit menunjukkan adanya saponin. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{7,8,9}

Pemeriksaan Tanin

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 tetes besi (III) klorida 5%. Bila terbentuk warna

biru tua menunjukkan adanya tanin. Pemeriksaan diulang sebanyak tiga kali.^{10,11,12}

Karakterisasi Bakteri Uji

Karakterisasi bakteri uji yang dilakukan yaitu pewarnaan gram, penanaman pada media *Salmonella-Shigella Agar*, dan *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni bakteri uji pada media peremajaan yang telah berumur 24 jam diambil menggunakan jarum ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl steril 0,9%. Kekeruhan yang didapatkan kemudian disetarakan dengan standar McFarland 0,5 yang setara dengan jumlah pertumbuhan 1×10^8 sel bakteri/mL dan setelah setara maka suspensi ini yang akan digunakan sebagai bakteri uji.^{13,17}

Uji Aktivitas Antibakteri

Suspensi bakteri yang telah sesuai dengan standar 0,5 McFarland sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dituangkan media *Mueller Hinton Agar* sampai mencapai kedalaman 4 mm. Cawan petri digoyang-goyang hingga suspensi bakteri dan media menjadi homogen dan media dibiarkan memadat. Setelah itu diletakan cakram yang telah diberi ekstrak rimpang jeirngau merah dengan beberapa konsentrasi serta kontrol positif dan negatif. Untuk kontrol positif, digunakan siprofloksasin dengan dosis 5µg/disk. Media diinkubasi pada suhu 37° C selama 1x24 jam. Selanjutnya diamati zona hambat yang terbentuk dengan melihat zona bening di sekitar sumuran yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.^{14,18}

HASIL

Pengolahan Sampel

Banyaknya rimpang jeringau merah yang terkumpul yaitu sejumlah 1.359 gram. Rimpang kemudian dikeringkan untuk dibuat simplisia, simplisia yang telah disortasi kemudian dihaluskan menggunakan blender dan didapatkan 315,7 gram simplisia halus.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap hasil ekstrak rimpang jeringau merah (*Acorus calamus* Linn.) menunjukkan hasil positif terhadap adanya kandungan senyawa, alkaloid, terpenoid, saponin, minyak atsiri dan tanin, sedangkan flavonoid dan steroid menunjukkan hasil negatif.

Karakterisasi Bakteri Uji

Karakterisasi bakteri uji yang dilakukan yaitu pewarnaan gram, penanaman pada media *Salmonella-Shigella Agar*, dan *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA); semuanya hasilnya positif (+).

Pewarnaan gram terhadap bakteri yang dilakukan menunjukkan hasil yang sesuai dengan sifat dan morfologi *Shigella flexneri* yaitu bakteri gram negatif yang ditandai dengan warna merah dan berbentuk kokobasil. Hasil karakterisasi yang dilakukan pada media *Salmonella-Shigella Agar*, didapatkan hasil koloni yang terbentuk tidak berwarna serta tidak terbentuk bulatan hitam di tengah koloni yang menandakan tidak terbentuknya (H₂S), hasil tersebut sesuai dengan karakteristik yang dimiliki oleh bakteri *Shigella flexneri*. karakterisasi yang dilakukan

pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), didapatkan hasil terbentuknya warna kuning pada dasar tabung dan lereng tetap berwarna merah serta tidak menghasilkan H₂S yang sesuai dengan karakter *Shigella flexneri*. *Shigella* merupakan bakteri yang tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya sehingga tidak terjadinya perubahan warna dari hijau menjadi biru pada *Simmons Citrate Agar*.^{28,31,32,33}

Uji Aktivitas Antibakteri

Penelitian ini menggunakan dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin 5 µg/disk dan kontrol negatif menggunakan metanol serta sepuluh kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak metanol rimpang jeringau merah 100%, 90%, 80%,

70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% dan 10%.

Antibiotik siprofloksasin sebagai kontrol positif menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C dengan diameter zona hambat rata-rata 25,86 mm setelah diukur menggunakan penggaris. Diameter rata-rata 25,86 mm pada kontrol positif pada tiga kali pengulangan menunjukkan bahwa siprofloksasin masih sensitif terhadap bakteri *Shigella flexneri*. Kepekaan antibakteri menggunakan siprofloksasin 5 µg/sumuran dilihat berdasarkan ukuran zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi yaitu, ≥ 21 mm diinterpretasikan sebagai sensitif, 16-20 mm *intermediate*, ≤ 15 mm resisten.^{29,30}

Metanol sebagai kontrol negatif juga tidak memiliki aktivitas antibakteri yang ditandai dengan tidak adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram, hal ini menunjukkan bahwa metanol yang digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi tidak memiliki aktivitas antibakteri.^{22,23} Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak jeringau merah (*Acorus calamus* Linn.) dengan variasi konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% dan dengan tiga kali pengulangan setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*.

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan aktivitas antibakteri menunjukkan adanya

peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Hal ini disebabkan karena efek atau aktivitas yang ditimbulkan oleh suatu ekstrak berbanding lurus dengan nilai dosis atau konsentrasinya; semakin tinggi dosis atau konsentrasi suatu ekstrak, maka akan semakin tinggi pula kandungan senyawa antibakteri yang terlarut di dalamnya. Senyawa antibakteri yang terlarut di dalam ekstrak tersebut ada dalam bentuk senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dikandung oleh rimpang jeringau merah.^{33,34,35} Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang jeringau merah mengandung metabolit sekunder tumbuhan berupa alkaloid, tanin,

saponin, minyak atsiri dan triterpenoid.

Tanin merupakan golongan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antibakteri. Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak komponen membrane sel, dinding sel, enzim, materi genetik, maupun komponen protein lain.²³ Ion H⁺ dari senyawa fenol dan turunannya akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karbosilat, dan asam fosfat.²³ Keadaan ini menyebabkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan keutuhan membrane, sel bakteri lisis dan berujung pada kematian.²⁴ Keutuhan dinding sel dirusak dengan cara mengganggu sintesis peptidoglikan yang berujung pada kematian sel juga. Jika terbentuk ikatan hydrogen antara tanin dan

protein maka akan terjadi presipitasi dan denaturasi protein, akhirnya enzim akan inaktif, dan materi genetik akan rusak. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer. Aktivitas antimikroba tanin berkaitan dengan kemampuannya dalam menginaktivasi adhesi, enzim-enzim, transpor protein pada mikroba. Tanin juga berikatan dengan polisakarida.^{25,26} Tanin juga bekerja dengan merusak membran sel. Tanin dapat berikatan dengan besi dimana besi dibutuhkan bakteri untuk metabolismenya. Ketiadaan besi mengakibatkan kematian bakteri.²⁷ Kekuatan antibakteri dari tanin bergantung dari jumlah gugus hidroksilnya. Tanin dapat menghambat dan menonaktifkan kerja enzim. Diduga mekanismenya dengan cara mengurangi

ketersediaan substrat dan berikatan dengan kofaktor enzim. Substrat dan kofaktor sangat diperlukan untuk bekerjanya suatu enzim, dengan nonaktivasi enzim maka suatu bakteri tidak mungkin untuk tumbuh.²⁶

Begitu pula dengan metabolit sekunder saponin yang juga memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran kuman.²³ Selain itu,

mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.²³

Alkaloid yang terdapat pada ekstrak metanol jeringau merah memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme aktivitas antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara

utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Terpenoid yang bersifat lipofilik memiliki aktivitas antibakteri. Terpenoid juga merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat di jeringau merah. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membran sel bakteri, senyawa ini akan bereaksi dengan sisi aktif membran, melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya²³.

Minyak atsiri sebagai salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada jeringau merah memiliki aktivitas antibakteri yang memiliki mekanisme kerja dengan cara mengganggu permeabilitas dari membran sel bakteri. Penggangguan permeabilitas dari membran sel bakteri ini diperankan oleh salah satu

komponen penting dari minyak atsiri yaitu β -asaron. Membran sel bakteri yang telah mengalami gangguan permeabilitas tersebut kemudian mati akibat kebocoran cairan intrasel, pada ekstrak rimpang jeringau merah (*Acorus calamus* Linn.) terdapat metabolit sekunder minyak atsiri yang memiliki peran sebagai antibakteri.²²

KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol rimpang jeringau merah (*Acorus calamus* Linn.) adalah alkaloid, minyak atsiri, saponin, tanin dan terpenoid.

Ekstrak metanol rimpang jeringau merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri* dengan konsentrasi efektif yaitu 100%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sudoyo A.W, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi IV Jilid III, Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 2009.
2. Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat, Surveilans Terpadu Penyakit Berbasis Puskesmas, Dinkes Kalbar, Pontianak, 2011.
3. Herwana E, Surjawidjaja JE, Salim OC, Indriani N, Bukitwetan P, Lesmana M. Shigella-Associated Diarrhea in Children in South Jakarta, Indonesia, 2010; Vol 41 No.2.
4. Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan, 2013, Jeringau. Herbal dengan Segudang Manfaat, Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan, Ambon.
5. Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat, Surveilans Terpadu Penyakit Berbasis Puskesmas, Dinkes Kalbar, Pontianak, 2011.
6. Herwana E, Surjawidjaja JE, Salim OC, Indriani N, Bukitwetan P, Lesmana M. Shigella-Associated Diarrhea in Children in South Jakarta, Indonesia, 2010; Vol 41 No.2.
7. Gunawan D dan Mulyani S. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jilid I. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta, 2004.
8. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Cara Pembuatan Simplisia*. Depkes RI, Jakarta, 1985.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1979.
10. Syamsuni HA. Ilmu Resep, Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta, 2006.
11. Harborne JB dan Baxter H. *Phytochemical dictionary*. Taylor and Francis. London, 1995.
12. Atmoko T dan Ma'ruf A. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orangutan terhadap Larva *Artemia salina* L. (Toxicity Testing and Phytochemical Screening of Orangutan Food Extracts to Larvae of *Artemia salina* L.), Jurnal Penelitian dan Konservasi alam, 2009.
13. Lailatul L, Kadarohman A, Eko R. Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanioides*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex* sp, dan *Anopheles sundaicus*. Jurnal Sains dan Teknologi Kimia: Jurusan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung, 2010; 1(1) : 59-65.
14. Indian Council of Medical Research (ICMR). Detection of Antimicrobial Resistance in Common Gram Negative and Gram Positive Bacteria Encountered in Infectious Diseases An Update, ICMR Bulletin, 2009; 39:1-3.
15. Rahmawati R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rhizoma Alang-Alang terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, Universitas Tanjungpura, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Pontianak, 2010. (Skripsi).
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement, CLSI, Wayne, PA, 2013.
17. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*, Depkes RI, Jakarta, 2000.
18. Depkes RI. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008; Hal. 8-9, 11-12.
19. Sadek P. *Solvent Miscibility and Viscosity Chart*. The HPLC Solvent Guide. Wiley-Interscience, 2002.
20. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, *Sediaan Galenik*. Depkes RI, Jakarta, 1986.
21. Septiana AT dan Asnani A. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi, Jurnal Agrotek, 2012; Volume 6, No. 1.
22. Arifianti L, Oktariana RD, kusumawati I. Pengaruh Jenis Pelarut Pengakstraksi terhadap Kadar Sinensetin dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus*,

- Benth, E-Journal Planta Husada, 2014; Vol.2, No.1 April 2014.
23. Cowan M. Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 1999; 12(4): 564-82.
 24. Hassan S M. Antimicrobial Activities Of Saponin Rich Guar Meal Extract, *Poultry Science*, A&M University, Texas, 2008. (Disertasi).
 25. Sabir A. Aktivitas Antibakteri Flavonoid *Propolis trigona* sp terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). *Majalah Kedokteran Gigi*, 2005; 38(3): 135-41.
 26. Costabile A, Sanghi S, Pelaez SM, Harvey IM, Gibson GR, Rastal RA et al. Inhibition of *Salmonella Typhimurium* by tannins *in vitro*, *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 2011; 9(1): 119-24.
 27. Al-Ani RT, Mohammed N, Alhameed A, Mohammed S. Antibacterial Activity of Tannins Extracted from Some Medicinal Plants *in vitro*, Department of Biochemistry, Al-Anbar University, Iraq, 2008.
 28. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Mikrobiologi kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*, Edisi ke-23, EGC. Jakarta, 2007.
 29. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Eleventh Edition*, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012; 32 (1).
 30. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved guideline*, 1999.
 31. Agtini MD, Soeharno R, Lesmana M, Punjabi NH, Simanjuntak C, Wangsasaputra F *et al*. The burden of diarrhoea, shigellosis, and cholera in North Jakarta, Indonesia: findings from 24 months surveillance, *BMC Infect Dis*, 2005; 5(89): 1-11.
 32. Herwana E, Surjawidjaja JE, Salim OC, Indriani N, Bukitwetan P, Lesmana M. Shigella-Associated Diarrhea in Children in South Jakarta, Indonesia, 2010; Vol 41 No.2.
 33. Sepdahlia F. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Langsung (*Lansium domesticum* Cor.) terhadap *Shigella flexneri* Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran, Pontianak, 2013. (Skripsi).
 34. Goodman dan Gilman. *Dasar Farmakologi Terapi*, Ed ke-12, Vol 2, Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB (alih bahasa), Hanif A *et al*, EGC, Jakarta, 2007.
 35. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. *Rang and Dale's Pharmacology*, Ed ke-7, Churchill Livingstone, London, 2012.