

UJI DAYA HAMBAT INFUSA BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* (L)) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli*

Suharyanisa^{1*}, Evarina Sembiring², Ester Saripati Harianja³, Sahma Desriani Sinaga⁴

^{1,2,3,4}Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Email : suharyanisa0706@gmail.com

ABSTRACT

Background: Brotowali stems (*Tinospora crispa* (L)) contain many chemical compounds that are efficacious in curing various diseases. Brotowali stems (*Tinospora crispa* (L)) contain bitter compounds (Picoretin), alkaloids, tinocrisposide, saponins, columbine, palmatin, kaemferol, and starch. *Escherichia coli* (Gram negative) is a bacterium that causes diarrhea. **Research objectives:** The purpose of this study was to determine the inhibitory power of brotowali stem infusion on the growth of *Escherichia coli* bacteria and to determine the effective concentration of brotowali stem infusion on the growth of *Escherichia coli*. **Research method:** This research method uses an experimental method of agar diffusion method of agar diffusion method to test the antibacterial and infusion of brotowali stems with concentrations of 25% w/v, 50% w/v, and 75% w/v. **Results:** The results of this study showed that concentrations of 25%, 50%, 75% of brotowali stem infusion had antibacterial inhibition against the growth of *Escherichia coli* as indicated by the inhibitory diameters of 7,5mm, 7,93mm, 10mm, respectively. **Conclusion:** The conclusion of this study can be concluded that the infusion of brotowali stems (*Tinospora crispa* (L)) can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: Infusion, Inhibition, *Tinospora crispa* L, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit utama morbiditas dan mortalitas di dunia. Menurut WHO (*World Health Organization*) pada tahun 2011, sebanyak 25 juta kematian di seluruh dunia, sepertiganya disebabkan oleh infeksi. Penyakit infeksi menjadi masalah kesehatan di dunia terutama Negara berkembang karena tingkat pengetahuan dan kesadaran pentingnya kesehatan penduduknya masih rendah. Sebagian besar penyakit infeksi disebabkan oleh bakteri (Radji, 2011). Penyakit yang terjadi pada manusia dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain lemah nya system imun, faktor genetik, pola makan dan asupan gizi yang tidak sehat. Selain itu faktor kebersihan lingkungan juga berpengaruh terhadap kesehatan seseorang. Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan

yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Kenyataan menunjukkan bahwa di negara negara yang sedang berkembang urutan penyakit penyakit utama nasional masih ditempati oleh berbagai penyakit infeksi (Nelwan, 2006). Salah satu penyakit yang masih merupakan masalah penyakit di Indonesia adalah penyakit diare. Data WHO (2013) menunjukkan bahwa setidaknya satu balita meninggal karena diare perdetiknya. Penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan utama pada masyarakat Indonesia yang disebabkan oleh faktor lingkungan dan perilaku hidup tidak sehat sehingga makanan dan minuman tercemari oleh bakteri *Escherichia coli* (Brooks *et al.* 2010; Zhou *et al.* 2018). *Escherichia coli* merupakan golongan *Enterobacteriaceae* yaitu bakteri gram negatif yang biasanya hidup sebagai flora normal usus kecil dan usus besar yang pada umumnya tidak

menyebabkan penyakit (non-patogenik). Namun, ada juga *E. coli* yang bersifat patogenik antara lain *E. coli* entropatogenik (EPEC), *E. coli* enterounvasif (EIEC), dan *E. coli* enterotoksigenik (ETEC). Air merupakan pembawa *E. coli* kelompok ini sehingga keberadaannya pada pangan kemungkinan disebabkan sanitasi pangan yang rendah (Wantik, 2018). Bakteri yang bersifat patogenik dapat menimbulkan efek samping berbahaya bila tidak tertangani dengan baik. Obat kimiawi yang dapat digunakan untuk mengatasi diare banyak ditemukan secara bebas di pasaran. Namun, Indonesia adalah Negara dengan banyak sekali kearifan local salah satu kearifan local untuk pengobatan diare adalah dengan menggunakan berbagai jenis obat tradisional. Negara Indonesia yang dikenal sebagai Negara tropis memiliki keanekaragaman hayati yang berlimpah. Keanekaragaman hayati tersebut kemudian banyak dimanfaatkan masyarakat untuk berbagai kebutuhan khususnya obat. Salah satu tumbuhan yang bermanfaat dan sering digunakan oleh masyarakat adalah tanaman brotowali. Brotowali (*Tinopora crisa* (L)) merupakan jamu (obat tradisional) yang memiliki rasa pahit. Tanaman ini memiliki banyak kegunaan diantaranya adalah sebagai obat diare, menurunkan kadar gula darah mencegah kambuhnya alergi, meredakan peradangan, memelihara kesehatan tulang, menjaga kesehatan hati, dll. Brotowali mengandung banyak senyawa kimia yang berkhasiat menyembuhkan berbagai penyakit. Kandungan senyawa kimia berkhasiat terdapat pada seluruh bagian tanaman dari akar, batang, sampai daun. Dalam tanaman brotowali (*Tinospora crisa* (L)), terkandung berbagai senyawa kimia antara lain alkaloid, dammar lunak, pati, glikosida, pikroretosid, berberin, palmitan, kolumbin, dan kaokulin atau pikrotoksin (Kresnady, 2003). Batang brotowali mengandung glikosida furanoditerpen, yang berasa pahit, N-trans feruloil tiramin, N-cis feruloil tiramin, tinotuberide,

borapetoside A, borapetol, tinosporin, dan tinoporidin (Mursito, 2001). Selain itu batang brotowali juga mengandung saponin, palmatin, kaemferol, dan pati (Muhlisah, 2007). Penelitian Tanaman brotowali sudah sering dilakukan dan menunjukkan bahwa brotowali dapat digunakan sebagai antibakteri yang dilakukan oleh Soemiati, dkk (1998) yang menguji daya antibakteri infusa batang brotowali terhadap berbagai bakteri standar, mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Sterptococcus* dengan Zona hambat terbesar yakni 14 mm dengan konsentrasi 200 mg dan bakteri *Salmonella thyposa* yakni dengan zona hambat terkecil yakni 8,11 mm pada konsentrasi 900 Mg.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini secara eksperimental yang meliputi pengumpulan bahan tumbuhan, identifikasi tumbuhan, pembuatan simplisia yang dilakukan untuk menguji daya hambat infusa batang brotowali terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* diukur zona hambatnya.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah aluminium foil, autoklaf, batang pengaduk, beaker glass, Bunsen, cawan petri, hote plate, kapas, kertas perkamen, kertas saring, kompor, laminar air flow, mikropipet, neraca analitik, jarum ose, rak tabung, pipiet volume dan pipet ukur, Erlenmeyer, benang wol, kaca arloji, panci infusa, penangas air, blender, penjepit tabung, pinset, pipet tetes, rak tabung, spatula, tabung reaksi, vial.

Bahan yang digunakan yaitu pada penelitian ini yaitu: Batang brotowali (*Tinospora crisa* L), Media Nutrient agar (NA), Media Muller Hinton Agar (MHA), Bakteri *Escherichia coli* ATTC 8739, Aquadest steril, natrium asetat, asam sulfat, kloralhidrat, asam nitrit, iodium, asam klorida 2N, Molisch mayer, dragendroff, bouchardat, pereaksi lieberman bouchard, besi (III), timbal (II),

Klorida 10%, Amoxicilin, NaCl, naCl 0,9%, kertas cakram, Mc Farland. Sampel yang digunakan adalah sebagian batang brotowali yang diperoleh dari Desa Dame Raya, Kecamatan Raya, Kabupaten Simalungun.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia batang brotowali (*Tinospora crispa* L) dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Skrining fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid/triterpenoid. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1 Hasil pemeriksaan skrining fitokimia dari serbuk simplisia metabolit sekunder dan pereaksi.

| Golongan Senyawa | Nama Pereaksi | Warna yang terbentuk | Hasil |
|-------------------------|---|-----------------------------|--------------|
| Alkaloid | Meyer | Endapan berwarna kuning | - |
| | Bouchart | Coklat | - |
| Flavonoid | SerbukMg ⁺ Amil Alkohol+HCl _p | Merah kekuningan | + |
| Saponin | Air panas + HCL 2N | Terbentuk busa yang stabil | + |
| Tanin | Air panas+FeCl ₃ 10% | Hijau kehitaman | + |
| Triterpenoid/steroid | Lieberman-Bourchat | Coklat | - |

Keterangan:

(+) positif : mengandung golongan senyawa

(-) negatif : tidak mengandung golongan senyawa

Hasil skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia batang Brotowali menunjukkan hasil positif pada senyawa Flavonoid, Saponin, Tanin. Sedangkan alkaloid dan triterpenoid tidak mengandung senyawa. Kegunaan skrining fitokimia yaitu untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang terkandung dalam tumbuhan, karena pada tahap ini kita bisa mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung di dalam tumbuhan yang sedang di uji/diteliti. Senyawa saponin merupakan senyawa kimia yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antivirus (Robinson, 1995). Senyawa yang bersifat antibakteri bekerja menghambat pertumbuhan bakteri melalui berbagai cara perusakan pada bagian bagian anatomi bakteri. Senyawa fenol dan turunannya (Flavonoid) merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membrane sitoplasma (Herborn, 1987). Saponin menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel (Robinson, 1995). Uji metabolit sekunder pada flavonoid dilakukan dengan menggunakan serbuk

Mg, HCl pekat dan amil alkohol. Hasil warna yang diperoleh terbentuk warna kuning jingga pada lapisan amil alkohol. Hal ini menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid. Uji metabolit sekunder pada golongan senyawa tanin dengan penambahan larutan FeCl₃ menghasilkan warna biru kehitaman. Hal ini menunjukkan adanya golongan senyawa tanin. Uji metabolit yang dilakukan pada saponin dengan penambahan air panas lalu dikocok kuat membentuk busa setinggi 1-10 cm dan busa tidak hilang dengan penambahan Asam sulfat 2N. Hal ini menunjukkan hasil positif pada pemeriksaan saponin.

Hasil Pengujian Daya Hambat Infusa Batang Botowali (*Tinospora crispa* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.

Pengujian daya hambat infusa batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) dilakukan untuk mengetahui kekuatan dari infusa batang brotowali dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil pengukuran diameter

hambat *Escherichia coli* pada tabel 4.2 menunjukkan bahwa infusa batang brotowali memiliki daya hambat pada bakteri *Escherichia coli*. Diameter zona hambat semakin lebar dengan adanya peningkatan konsentrasi infusa yang diuji. Pengukuran zona hambat digunakan dengan

menggunakan pencadang kertas, diameter zona hambat disekitar pencadang kemudian diukur dan digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap bakteri yang diuji. Metode ini dipilih karena lebih praktis namun tetap memberikan hasil yang diharapkan.

Tabel 2 Hasil pengukuran diameter daerah hambat infusa batang brotowali (*Tinospora crispera* L) Terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

| Konsentrasi infusa batang brotowali (%) | Rata-rata diameter (mm) | | | Hasil Rata-rata (mm) |
|---|-------------------------|------|------|----------------------|
| | P(1) | P(2) | P(3) | |
| 25% | 8,3 | 7,2 | 7,0 | 7,5 mm |
| 50% | 9,3 | 7,2 | 7,3 | 7,93 mm |
| 75% | 10,4 | 11,6 | 8 | 10 mm |
| Aquadest steril | - | | | - |
| Kloramfenikol | 15,7 | | | 15,7 mm |

Keterangan :

P : Pengulangan

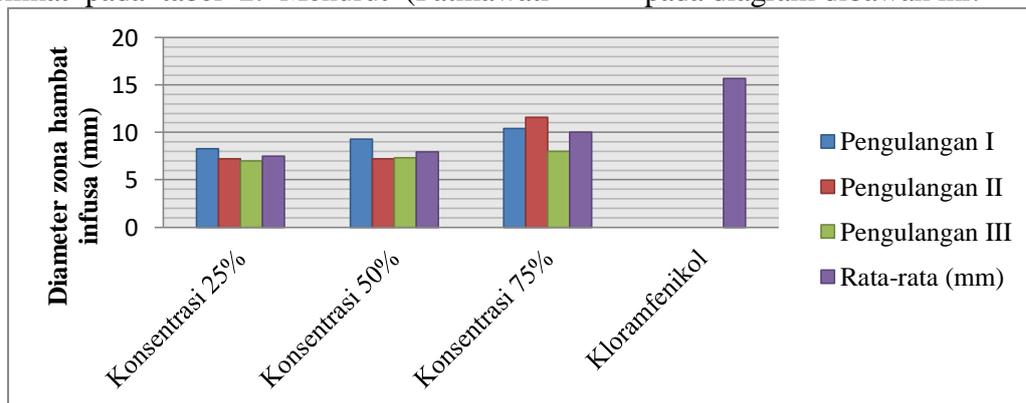
- : Tidak memberikan hambatan

Pada pengujian daya hambat infusa batang brotowali (*Tinospora crispera* L) menunjukkan daya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang berarti bahwa infusa batang brotowali memiliki sifat sebagai antibakteri. Pemilihan batang brotowali sebagai bahan penelitian ini disebabkan kandungan fotokimia dari tumbuhan brotowali lebih banyak ditemukan di batang brotowali. Kemampuan infusa batang brotowali dalam menghambat suatu aktivitas bakteri dikarenakan adanya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri diantaranya flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid yang terkandung dalam batang brotowali berdasarkan (Ahmad, et.al.,2016) yakni apigenin, diosmetin, kuersetin, dan genkwanin, bekerja sebagai antibakteri yakni dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Ngajow, dkk, 2013). Selain itu tanin juga dapat menyerang polipeptida dari dinding sel bakteri sehingga menyebabkan pembentukan dinding sel bakteri menjadi tidak sempurna dan sel bakteri akhirnya menjadi lisis karena tekanan osmotik dan tekanan fisik sehingga bakteri akan mati. Saponin sebagai antibakteri

memiliki mekanisme kerja yakni dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga menyebabkan naiknya permeabilitas dan menyebabkan cairan sel akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membrane luar dinding sel lalu mengikat membrane sitoplasma dan akhirnya mengganggu kestabilan sel, hal ini menyebabkan sitoplasma bocor dan mengakibatkan kematian sel (Ngajow, 2013). Pengujian antibakteri diawali dengan melakukan pengujian dengan konsentrasi 25% b/v, 50% b/v, 75% b/v pada bakteri *Escherichia coli*. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25% b.v adalah 7,5mm, pada konsentrasi 50% b/v adalah 7,93 mm, pada konsentrasi 75% b/v adalah 10 mm. Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai pembandingan dalam menentukan aktivitas antibakteri dari infusa batang brotowali . Pada uji daya hambat infusa ini digunakan Kloramfenikol 250 mg sebagai kontrol positif, dengan menunjukkan hasil daya hambat sebesar 15,7 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah aquadest steril. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat artinya Aquadest steril tidak

berpengaruh pada bakteri uji. Pada penelitian ini digunakan aquadest steril sehingga dapat dipastikan bahwa yang menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah infusa batang brotowali yang diuji. Hasil pengujian daya hambat menunjukkan bahwa infusa batang brotowali terhadap bakteri *Escherichia coli* memiliki sifat daya hambat yang efektif pada konsentrasi 75% dengan daerah hambat sebesar 10 mm sedangkan hambat minimum pada konsentrasi 25% dengan diameter 7,5 mm. Hasil pengujian daya hambat infusa batang brotowali terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 2. Menurut (Fatmawati

dan Wiyono, 2012), kriteria kekuatan daya hambat antibakteri, yaitu : diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat 20 mm dikategorikan sangat kuat. Jadi hasil pengukuran pada penelitian ini menunjukkan daya hambat infusa batang brotowali (*Tinospora crisper* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi 25% (7,5 mm), konsentrasi 50% (7,93 mm), konsentrasi 75% (10 mm) tergolong dalam kategori sedang. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada diagram dibawah ini:



Gambar 4.1 Pengukuran diameter daerah hambat

Zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram menunjukkan bahwa infusa batang brotowali (*Tinospora crisper* L) memiliki sifat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Zona bening tersebut kemudian disebut sebagai zona hambat. Adanya aktivitas daya hambat infusa batang brotowali dipengaruhi oleh sifat dan jumlah senyawa aktif (Flavonoid, tanin, Saponin). Tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membrane sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibatnya pertumbuhan terhambat atau bahkan mati. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membrane sel inaktivasi fungsi materi genetik. Menurut Wahyuni (2014) mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri, sehingga dapat merusak membrane

sitoplasma bakteri diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler dinding sel bakteri lisis dan senyawa akan berikatan dengan lipid DNA bakteri sehingga menghambat replikasi DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan menyebabkan senyawa intraseluler akan keluar (Nugrahani, 2015). Antibiotik digunakan sebagai pembanding adalah Kloramfenikol. Senyawa ini juga efektif untuk pengobatan infeksi berat yang disebabkan oleh bakteri gram positif maupun negatif (Radji, 2014).

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang dilakukan terhadap Batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) diperoleh kesimpulan:

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Infusa batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, karena disekitar kertas cakram terdapat zona bening yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.
2. Konsentrasi infusa batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah konsentrasi 75% b/v dengan daya hambat sebesar 10mm. Semakin tinggi konsentrasi infusa maka semakin besar zona hambat nya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aspan, R. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeurup*. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Berg, H.C. 2004. *E.coli in motion, Biological, and Medical Physics Biomedical Engineering*. Spinger verlog Alp Press. New York
- Brooks GF, Carrol KC, Butel JS, Morse SA dan Mietzner TA. 2010. *Mikrobiologi kedokteran* (Jawetz , melnick & delberg) Edisi 25. Jakarta.
- Brooks, I, 2001. Recovery of anaerob bacteria form four children with pasthoraractomy sretna wound infection Journal of Pediatrics.
- Carter. G. R dan Wise, D.J.2014 *Essential of veterinary bacteriologi dan micologi 6th edition* Iowa state press, A black well science publishing company: Iowa.
- Dasopang Eva Sartika & Simutuah Akmal., 2016, *Formulasi sediaan gel antiseptic tangan dan uji aktivitas antibakteri Ekstrak etanol daun pandan wangi (Pandanus amiryllifolius Roxb)*. *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, kesehatan* Vol 3. No 1.
- Darsana, I.G.O., 2012, *Potensi daun binahong (Andrera Cordifolia (Tenore) steenis) Dalam menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli secara In Vitro*, *Indonesia Medicum veterinus* 1 (3).
- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan pertama*. Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan RI, 1979, *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta.
- Dewi, dkk, 2014. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (Crescentia cujete) Terhadap pertumbuhan bakteri Ralstonia solanaceum penyebab penyakit layu*, S, Lentera. B,O.
- Departemen Kesehatan RI 2008 *Profil Kesehatan Indonesia 2007*. Jakarta: Depkes RI Jakarta.
- Dwidjoseputro. 2010. *Dasar dasar mikrobiologi*. Penerbit Djembatan: Jakarta
- Dirjen POM. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Depkes RI.
- Fardiaz, S, 1989. *Mikrobiologi pangan pusat antar universitas Institut Pertanian Bogor*, Bogor.
- Geniswarna, S, 1995. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, bagian farmakologi fakultas kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Herbie tandi, (2015). *Kitab tanaman khasiat obat* : Yogyakarta OCTUPUS Publishing house.
- Islam, M.D, Amin, M, And, Mahmud Z, 2014. *Evaluasi Of Analgetic and Antimikrobial Activity Of Different Fractions of Crude Methanol Ekstrak of Tinospora crispa stems*, *International Jurnal of Pharma sciens and Research*,5 (1): 16-21.

- Jawetz et. al. 1995. *Mikrobiologi kedokteran dalam mikrobiologi buku* (20Ed). Jakarta : EGC.
- Jawetz, E, dkk. 2008. *Mikrobiologi untuk profesi kesehatan edisi 16, Jakarta, EGC.*
- Jawetz, E., Joseph, M., Edward, A.A., Geo, F.B, Janet,S.B,. dan Nicholas, L.D, (2001). *Mikrobiologi kedokteran* , Penerjemah; Mudihardi, E, Kuntaman., Wasito E.,B., Mertamiasih, M., Harsono , S., Alimsardjono., L. Jakarta: Penerbit Salemba Medica. Halaman 357.
- Jutono, dkk. 1980. *Pedoman praktikum mikrobiologi umum untuk perguruan negeri.* Yogyakarta: UGM press
- Kresnady, B, 2013. *Khasiat dan Manfaat Brotowali; Si pahit yang menyembuhkan.* Depok: PT Agromedia pustaka.
- Lumbanraja, L.B. 2009, *Skrining fitokimia dan uji efek Anti inflamasi Ekstrak etanol daun tempuyung (Soncus arvensis L) Terhadap radang pada tikus,* Skripsi. Fakultas farmasi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Luliana, S., Susanti, R, Agustina, E, 2017. *Uji Aktivitas Inflamasi Ekstrak Air Herba Ciplukan (Physalis angulata L) Terhadap Tikus Putih (Rattus Norvegicus L) Di Induksi Karagenan.*
- Lay, B.W., dan Sugiyo Hastowo, (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium.* Jakarta: PT . Raja Grafindo Persada.
- Maksum Radji, 2010. *Buku ajar mikrobiologi; panduan mahasiswa farmasi dan kedokteran.*
- Wahyuni, Rina; Guswandi: Rivai, Harrizul, 2014. *Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin, dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto.* Jurnal Farmasi Higea.
- Melliawati, R, 2009. *E.coli dalam kehidupan manusia biotrend 5.4:1*
- Misnadiary, dan Djajaningrat, Hurjain, 2014. *Mikrobiologi untuk klinik dan Laboratorium,* Jakarta : Rhineka cipta.
- Muhlisah, dan ir. Fauziah. 2007. *Tanaman Obat Keluarga (TOGA).* Jakarta, PT. seri Agri Sehat.
- Mursito, B. 2001. *Ramuan Tradisional Untuk Ginjal.* Jakarta. Penebar Swadaya.
- Nanda, 2015. *Nursing diagnoses: Definitions & Classification.* Iowa. Willey-Blackwater.
- Ngajow M, Abidjulu J, Kamu Vs. *Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometia Pinatta) Terhadap bakteri Staphylococcus Aureus Secara In Vitro,* Jurnal MIPA 2013 3(2).
- Nelwan, R. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam jilid III edisi IV: Pemakaian antimikroba secara rasional di klinik.* Jakarta : Penerbit buku Kedokteran EGC. PP. 1700
- Pratiwi, 2008. *Mikrobiologi farmasi,* Jakarta: Erlangga
- Puji lestari, B, I, dan R. Pratiwi 2009. *Pemanfaatan Tanaman Brotowali (Tinospora crispa (L)) sebagai antidiabetik. Prosiding. Peran biologi dalam penyelamatan Biodiversitas Indonesia.*
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa farmasi dan kedokteran.* Jakarta: EGC
- Radji, Maksimum DR. M. Biomed. 2014. *Buku Ajar Mikrobiologi. Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran,* Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Retnowati, Y., Bialangi N. dan posangi , N. W., 2011, *Pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus pada media yang diekspos denga infus daun sambiloto (Andrographis paniculata).*

- Safitri, Ratu & Sinta, Novel, 2010. *Medium Analisis Mikroorganisme*. Jakarta: Trans Info Media.
- Singh, Parmijt, dkk. 2010. "The newman procedure for analyzing primary four pupils error on written mathematical task: A malaysian.
- Singkoh, M.F.O, 2011. *Aktivitas antibakteri ekstrak alga laut caulerpa dari perairan pulau nain*. Jurnal perikanan dan kelautan tropid. Volume VII-3, Tahun 2011.
- Sumpomo, Supriningrum., R., Junaid R., 2016 Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia daun karehau (*Callicarpa longifolia lamk*)., Jurnal Kimia Mulawarman Volime 13 No 2.
- Soemiati, A, Katrin, Rahamah, E, 1998, *Uji Daya Antibakteri Infus Batang brotowali Terhadap Beberapa Kuman Standar*, Warta Tumbuhan Obat Indonesia, 4 (2):20-22
- Tamher s. *Mikrobiologi untuk mahasiswa keperawatan. Edisi ke-12*, Jakarta: Trans Info media. 2008.
- Volk,W, A and M.F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi dasar*, Edisi ke lima, Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Waluyo, L, 2004, *Mikrobiologi umum*, Malang, UMM Press
- Wantik, I.A.A (2018). *Hubungan personal hygiene penjamah dengan keberadaab bakteri coliform dan Escherichia coli padaes jeruk di pasar kawak kelurahan rejosaru kecamatan kewedanan Magetan*. (Doctoral dissertation, STIKES BHAKTI HUSADA MULIA).