Daya Hambat Ekstrak Sambiloto *(Andrographis Paniculata)* Dengan Berbagai Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi*

Oleh :
Susie Amilah
Tenaga Pengajar Prodi Biologi FMIPA UNIPA Surabaya
Agus Prasetyo
Mahasiswa Biologi FMIPA UNIPA Surabaya

ABSTRAK

Andrographis paniculata atau yang dikenal dengan nama sambiloto adalah tumbuhan yang biasa dipakai oleh masyarakat untuk mengobati typoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak sambiloto terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* dan mengetahui konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Salmonella typhi.

Bahan uji yang digunakan adalah biakan bakteri *Salmonella typhi* yang diisolasi dari penderita yang dirawat di RSU Dr. H. Koesnadi Bondowoso, yang kemudian diuji dengan menggunakan ekstrak sambiloto dengan berbagai konsentrasi. Adapun konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi 5%, 10%, 20%, 30%, dan 40%. Pengamatan jumlah koloni kuman dilakukan dengan metode Total Plate Count (TPC) . Data dianalisis menggunakan uji F yang dilanjutkan dengan LSD.

Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa *Andrographis paniculata* atau sambiloto dengan berbagai konsentrasi memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *salmonella typhi.* Konsentrasi yang memberikan daya hambat terbaik adalah konsentrasi ekstrak 40%. Dengan demikian masyarakat dapat menggunakan sambiloto sebagai obat alternatif dalam melakukan pengobatan terhadap pendarita typoid.

Kata Kunci : Sambiloto *(Andrographis Paniculata)*, Daya hambat, Pertumbuhan, *Salmonella Typhi*

A. PENGANTAR

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan tumbuhan khas tropis, dan bisa tumbuh dipekarangan rumah, namun sekarang sudah banyak orang yang menyediakan lahan khusus untuk menanam tumbuhan ini untuk kemudian diolah menjadi herbal. Tanaman ini termasuk familia ***Acanthaceae,*** sering ditemukan tumbuh liar di tempat terbuka, seperti tepi jalan, ladang, atau tanah kosong yang terbengkalai, juga di pekarangan.

Banyak sekali manfaat dari daun sambiloto ini, diantaranya adalah untuk mengobati penyakit diabetes atau kencing manis, dan ada juga yang mengatakan daun sambiloto juga bisa untuk penyakit gatal-gatal dan mencegah kanker. Namun yang sudah banyak digunakan dan diakui khasiat dari daun ini adalah untuk mencegah malaria karena itu daun ini disebut juga obat anti malaria. Selain itu ternyata daun ini juga bermanfaat untuk menjaga daya tahan tubuh

atau stamina, karena itulah daun ini banyak digunakan untuk bahan jamu godokan. Masyarakat Indonesia sudah sejak dahulu menggunakan daun ini untuk bahan pembuatan jamu kesehatan. Herbal ini sangat efektif untuk pengobatan infeksi, In Vitro, air rebusannya merangsang daya fagositosis sel darah putih. Andrografolid menurunkan demam yang ditimbulkan oleh pemberian vaksin yang menyebabkan panas pada kelinci, juga terbukti berkhasiat sebagai hepatoprotektor (melindungi sel hati dari zat toksik). Dari segi farmakologi, sambiloto mempunyai efek anti inflamasi dan antibakteri. Komponen aktifnya seperti neoandrografolid, andrografolid, deoksiandrografolid dan14-deoksi-11,12- didehidroandrografolid berkhasiat anti radang dan antiperik (Hasir, 1988).

Demam typhoid timbul akibat dari infeksi oleh bakteri golongan Salmonella yang memasuki tubuh penderita melalui saluran pencernaan. Sumber utama yang terinfeksi adalah manusia yang selalu mengeluarkan mikroorganisme penyebab penyakit, baik ketika ia sedang sakit atau sedang dalam masa penyembuhan. Pada masa penyembuhan, penderita masih mengandung Salmonella spp didalam kandung empedu atau di dalam ginjal. Sebanyak 5% penderita demam tifoid kelak akan menjadi karier sementara, sedang 2 % yang lain akan menjadi karier yang menahun. Sebagian besar dari karier tersebut merupakan karier intestinal (intestinal type) sedang yang lain termasuk urinary type. Kekambuhan yang yang ringan pada karier demam tifoid, terutama pada karier jenis intestinal, sukar diketahui karena gejala dan keluhannya tidak jelas. Demam tifoid adalah penyakit yang penyebarannya melalui saluran cerna (mulut, esofagus, lambung, usus 12 jari, usus halus, usus besar, dstnya). *Salmonella typhi* masuk ke tubuh manusia bersama bahan makanan atau minuman yang tercemar. Cara penyebarannya melalui muntahan, urin, dan kotoran dari penderita yang kemudian secara pasif terbawa oleh lalat (kaki-kaki lalat). Lalat itu mengontaminasi makanan, minuman, sayuran, maupun buah-buahan segar. Saat kuman masuk ke saluran pencernaan manusia, sebagian kuman mati oleh asam lambung dan sebagian kuman masuk ke usus halus. Dari usus halus itulah kuman beraksi sehingga bisa " menjebol" usus halus. Setelah berhasil melampaui usus halus, kuman masuk ke kelenjar getah bening, ke pembuluh darah, dan ke seluruh tubuh (terutama pada organ hati, empedu, dan lain-lain). Jenis antibiotika yang sering digunakan dalam pengobatan demam tifoid adalah tiga macam obat, yaitu : ampisilin, kloramfenikol dan kotrimoksazol (Juwono Rahmat,1996). Ketiga jenis obat ini sudah sejak lama digunakan sehingga kecenderungan meningkatnya frekwensi resistensi sangat tinggi(Iswari, Asmono, Santoso dan Lina, 1996), oleh karenanya usaha untuk mendapatkan antibiotika alternatif perlu dikembangkan. Salah satu alternatif antibiotika ideal adalah penggunaan bahan alam yaitu ekstrak daun Sambiloto, dan ini sejalan dengan undang-undang No 23 tahun 1992 tentang pengobatan tradisional. Hal ini terutama didukung oleh hasil penelitian-penelitian sebelumnya dimana daun sambiloto mengandung zat antibiotika dan antiperitrik(demam), juga sebagai hepato-protektor yang bermanfaat dalam pengobatan demam tifoid, khususnya infeksi ekstra-intestinal yang menyerang liver dan pankreas. Infus daun sambiloto 5%,10%,15% dapat menurunkan suhu tubuh marmot yang dibuat demam(Hasir,1988), Pemberian rebusan daun sambiloto 40% b/v sebanyak 20 ml/kg bb dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (W. Sugiyarto,1978).Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penggunaan

daun sambiloto sebagai anti bakteri terhadap bakteri *salmonella typhi.*

Berdasarkan hal tersebut di atas,maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas daya anti bakteri ekstrak sambiloto yang memberikan efek paling maksimal terhadap pertumbuhan kuman *Salmonella.typhi* dengan menggunakan media invitro dalam rangka pemanfaatanya sebagai bahan yang berkhasiat obat.

B. BAHAN DAN CARA KERJA

1.Pembuatan Ekstrak Daun Sambiloto

Alat dan Bahan :

- 100 g daun sambiloto kering
- Kertas saring whatman 40
- Alkohol 96 %
- Labu Ekstraksi
- Penangas air
- Blender
- Mortir
- Beaker glass
- Gelas ukur
- Timbangan analitis
- Labu evaporator
- Penyaring Kupner

Cara pembuatan :

100 g daun sambiloto kering dihancurkan dan dilumatkan dengan memakai mortir dan blender. Setelah halus dimasukkan labu ekstraksi, tambahkan 100 ml alkohol 96 % lalu ekstraksi. Ulangi ekstraksi dengan 100 ml alkohol 96 % sebanyak 4 kali sehingga didapatkan filtrat yang jernih sebanyak 400 ml. Filtrat yang didapat dipindahkan ke labu evaporator yang sudah diketahui berat kosongnya, kemudian diuapkan diatas penangas air sampai diperoleh residu yang bebas dari alkohol. Residu yang didapat ditimbang untuk mengetahui beratnya, kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi 5 %, 10% , 20%,30 %dan 40%.

2.Isolasi dan Identifikasi Bakteri Salmonella typhi

Persiapan Pembuatan Media Salmonella-Shigella (SS)

Bahan: Bacto SS Agar : 6 gram

Aquadest : 100 ml

Cara membuat:

1. Bahan – bahan tersebut dimasukkan dalam beker glas, kemudian dipanaskan sampai larut.
2. Masukkan dalam erlemeyer tutup elemeyer, kemudian sterilkan pada autoklave .
3. Keluarkan dari autoklave dalam keadaan cair dan tuang dalam petridis secara steril, diamkan 15 – 20 menit sampai beku.
4. Masukkan petridish dalam inkubator 37° C selama 24 jam untuk mengontrol kontaminasi.
5. Simpan dalam almari pendingin.

Pembuatan media Mac Conkey Agar

Bahan : Bacto Mac Conkey Agar : 50 gram

Aquadest : 1000 ml

Cara membuat :

1. Masukkan dalam beker glas bahan – bahan diatas, panaskan hingga terlarut sempurna.
2. Masukkan dalam erlemeyer tutup elemeyer, kemudian sterilkan pada autoklave .
3. Keluarkan dari autoklave dalam keadaan cair dan tuang dalam petridis secara steril, diamkan 15 – 20 menit sampai beku.
4. Masukkan petridish dalam inkubator 37° C selama 24 jam untuk mengontrol kontaminasi.
5. Simpan dalam almari pendingin.

Pembuatan Carry & Blair

Bahan : Bacto Mac Carry&Blair : 1,26 gram

Aquadest : 100 ml

Cara membuat :

1. Masukkan dalam beker glas bahan – bahan

diatas, panaskan hingga terlarut sempurna.
2. Masukkan dalam erlemeyer tutup elemeyer, kemudian sterilkan pada autoklave .
3. Keluarkan dari autoklave dalam keadaan cair dan tuang dalam Tabung secara steril.
4. Simpan dalam almari pendingin.

Pembuatan Media Selenit

Bahan : Bacto HIB : 3,7 gram
Aquadest : 100 ml
Cara membuat :
1. Masukkan dalam beker glas bahan – bahan diatas, panaskan hingga terlarut sempurna.
2. Masukkan dalam erlemeyer tutup elemeyer, kemudian sterilkan pada autoklave .
3. Keluarkan dari autoklave dalam keadaan cair dan tuang dalam Tabung secara steril.
4. Simpan dalam almari pendingin.

Pembuatan Nutrien Agar

Bahan : Bacto Nutrien Agar : 2 gram
Aquadest : 100 ml
Cara membuat :
1. Masukkan dalam beker glas bahan – bahan diatas, panaskan hingga terlarut sempurna.
2. Masukkan dalam erlemeyer tutup elemeyer, kemudian sterilkan pada autoklave .
3. Keluarkan dari autoklave dalam keadaan cair dan tuang dalam dalam tabung reaksi a. 10 ml secara steril, diamkan dalam keadaan miring 15 – 20 menit sampai beku.
4. Masukkan palam inkubator 37° C selama 24 jam untuk mengontrol kontaminasi.
5. Simpan dalam almari pendingin.

Pembuatan Nutrien Broth

Bahan : Bacto Nutrien Broth: 3.7 gram
Aquadest : 100 ml
Cara membuat :
1. Masukkan dalam beker glas bahan – bahan diatas, panaskan hingga terlarut sempurna.
2. Masukkan dalam erlemeyer tutup elemeyer, kemudian sterilkan pada autoklave .
3. Keluarkan dari autoklave dalam keadaan cair dan tuang dalam dalam tabung reaksi a. 10 ml secara steril
4. Simpan dalam almari pendingin.

Pembuatan Standart MC. Farland

Bahan : H2SO4 1%
BaCl2 1%
Cara membuat :
1. Pipet H2SO4 1% Sebanyak 19,9 ml , masukkan dalam tabung
2. Pipet BaCl2 1% sebanyak 0,1 ml, masukkan dalam tabung berisi H2SO4 diatas.
3. Campur kedua bahan tersebut hingga terlarut sempurna (Kesetaraan 3 x 10^8 kuman)

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Salmonella typhi

1. Strain kuman S.typhi diisolasi dari 10 penderita demam tifoid yang rawat inap di RSUD Bondowoso dengan kriteria tes widal positif, diambil satu pasien dengan titer tertinggi kemudian diambil dengan cara sebagai berikut :

a. Ambil sampel rectal swab pada penderita
b. Masukkan pada media transport (carry &Blair)
c. Selanjutnya ambil sampel dari media transport kemudian tanam pada media Selenit broth, media ini menghambat kuman usus normal dan memungkinkan pembiakan salmonella, inkubasi 37°C selama 24 jam
d. Biakan darah dengan kuman positip lalu dibiakkan pada media Mac Conkey (media differensial) dan pada media selektif SS

(Salmonella Shigella), inkubasi 37^{0} C selama 24 jam. Reaksi kuman pada media McConkey menunjukkan laktosa negatip (tidak ada zona bening) pada media, koloni putih bening. Koloni bakteri Salmonella typhi pada medium Ssa tampak berwarna pink sampai kehitaman.

e. Dilakukan pengecatan gram pada koloni kuman sebagai berikut :
   - buat sediaan kuman pada obyek glas
   - kemudian digenangi dengan karbon gentian violet selama 3 menit
   - Cuci dengan air mengalir
   - Lunturkan dengan Asetil Alkohol 96 %. Selama 0,5 – 1 menit.
   - Cuci dengan air dan tuangi dengan safraninselama 3 – 5 menit, kemudian cuci dengan air mengalir.
   - Keringkan diudara dan lihat di bawah mikroskop pembesaran 1000X
   - Kuman Salmonella merupakan kuman basil/ batang, gram negatip, ditunjukkan dengan warna merah pada pengecatan gram.

f. Koloni tersangka dilakukan uji biokimia reaksi dan serologi, pada media TSI menunjukkan reaksi Alk/Acid, H2S (/+) , menghasilkan sitrat, media urea menunjukkan reaksi negatip, test motolity (+), tidak mereduksi citrat dan menunjukka reaksi indol (-) .

g. Selanjutnya strain murni yang didapatkan ditanam pada Nutrien agar miring untuk penyimpanan stok kuman.

h. Pada saat akan digunakan strain-strain S.typhi diremajakan lebih dulu pada media selenite broth, selanjutnya dibuat pengenceran kuman dengan acuan standar internasional(SI) untuk tes kepekaan terhadap anti mikroba yaitu : 0.5 Mac Farland.

3. Uji Aktivitas Daya Hambat Terhadap Salmonella typhi

Alat dan Bahan :
- Inkubator
- Autoklaf
- Tabung reaksi dan rak tabung
- Vortex (mixer)
- Cawan petri
- Media Mac Conkey
- Mikropipet
- Ekstrak daun sambiloto
- Bunsen burner
- Aquabides
- Ose standar (0.5 Mc Farland)
- Colony Counter

Cara kerja :

Tabel 1.
Pembuatan berbagai konsentrasi estrak sambiloto

Konsentrasi (%)	Ekstrak Andrographis paniculata (Gram)	Aquadest steril (ml)
5 %	0,5	10
10 %	1	10
20 %	2	10
30 %	3	10
40 %	4	10

Skema pelaksanaan pembuatan konsentrasi

Timbang Ekstrak sesuai konsentrasi

↓

Masukkan dalam 10 ml Aquadest steril (tiap konsentrasi)

↓

Masukkan masing – masing 1 ml dalam tabung steril (tiap konsentrasi 4 tabung)

Pelaksanaan pengujian
- Ambil tabung steril masukkan ekstrak sambiloto sesuai konsentrasi pengenceran

masing – masing 1ml (perlakuan diulang 4 Kali).

- Vortex agar larutan tercampur sempurna.
- Ambil suspensi kuman yang telah diencerkan sesuai dengan standar 0.5 Mac Farland, masukkan dalam tabung yang berisi ekstrak sambiloto pada berbagai konsentrasi masing-masing 5 ul kemudian vortex, untuk kontrol positip suspensi kuman dimasukkan pada 1ml aquades, kontrol negatip bsuspensi kuman diganti dengan aquades
- siapkan media Mac conkey Agar, Ambil dengan ose standar dari larutan yang sudah dicampur di atas lakukan striking dengan metode patron T agar koloni bisa terpisah sehingga mudah dihitung.
- Ulangi langkah-langkah tersebut di atas terhadap kontrol pos(+) dan kontrol neg (-). kontrol negatip
- Inkubasi 37°C 24 jam.
- Hitung koloni yang tumbuh segera setelah 24 jam. Untuk memudahkan, penghitungan dilakukan dengan menggunakan alat penghitung koloni bakteri yaitu Colony Counter.

Skema pelaksanaan penelitian

Tabung berisi ekstrak sambiloto + Salmonella typhosa

↓

Cawan petri berisi Mac conkey

↓

Inkubasi 37°C 24 jam

↓

Jumlah koloni yang tumbuh

Analisa Data

Penelitian ini menggunakan teknik analisa data uji F (anova) dengan rancangan acak lengkap satu arah untuk melihat pengaruh konsentrasi ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*, dengan catatan data berdistribusi normal dengan varian homogen. Selanjutnya untuk mengetahui perlakuan yang terbaik diantara perlakuan dan control dilakukan uji BNT dengan menggunakan LSD 5 %. .

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Penyajian Data

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai Efektifitas Pemberian Ekstrak Sambiloto *(Andrographis Paniculata)* Dengan Berbagai Konsentrasi Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi*, maka didapatkan data pertumbuhan *Salmonella Typhi* setelah diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi. Data dan grafik pertumbuhanyya dapat dilihat pada table dan grafik sebagai berikut:

Tabel 2. Data pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella Typhi* Dengan berbagai konsentrasi

Ulanagan	Konsentrasi						Total
	T0	T1 (5%)	T2 (10%)	T3 (20%)	T4 (30%)	T5 (40%)	
1	190	152	120	64	19	4	
2	199	181	144	41	26	-	
3	177	148	117	47	28	2	
4	189	159	124	54	17	-	
Total	755	640	505	206	90	6	2202
Rata rata	188,75	160	126,25	51,5	22,5	1,5	

Tabel 3. Analisa Ragam Untuk *Andrographis Paniculata* pada *Salmonella Typhi*

Sumber keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 1%	F Tabel 5%
Perlakuan	5	119272	23854,4	248,4116**	4,25	2,77
Galat	18	1728,5	96,027			
Total	23	121000,5				

Berdasarkan hasil analisa data, diperoleh F hitung sebesar 248,4116 sedangkan F tabel pada signifikasi 5% adalah 2,77 dan pada taraf signifikasi 1 % adalah 4,25, maka hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa nilai F hitung lebih besar dari F tabel pada taraf signifikasi 5% dan 1%. Dengan demikian hipotesis penelitian menyatakan bahwa Daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) berkhasiat sebagai zat penghambat pertumbuhan bakteri *Salmonellan typhi* dapat diterima.

Untuk mengetahui perlakuan mana yang terbaik dan berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan *Salmonellan typhi* maka digunakan uji LSD . Berdasarkan hasil uji LSD diketahui bahwa pemberian ekstrak *Andrographis paniculata* pada masing – masing konsentrasi memberikan pengaruh . Konsentrasi 40% menunjukkan perbedaan yang paling nyata dan paling efektif dibandingkan dengan pemberian ekstrak *Andrograpihis paniculata* dengan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 30%.

2. Pembahasan

Penghambatan pertumbuhan *Salmonella typhi* sangat dipengaruhi oleh konsentrasi zat aktif yang terlarut dalam ekstrak sambiloto, hal tersebut dapat dilihat pada hasil penelitian diatas dimana masing- masing konsentrasi memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan yang berbeda.Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa sambiloto mempunyai kasiat sebagai zat penghambat pertumbuhan bakteri *Salmonellan typhi* dapat diterima.

Di masyarakat sambiloto dikenal sebagai obat alternatif untuk mengobati tipoid dan dalam beberapa penelitian sambiloto terbukti berkasiat sebagai hepatoprotektor . Sambiloto antara lain mengandung laktone yang terdiri dari deoksiandrografolid, andrografolid dan homoandrografolid, 14-deoksi-11, 12-didehidroandrografolid dan homoandrodrafolid. Juga terdapat flavonoid, alkane, aldehid, mineral (kalium, kalsium, natrium), asam kersik dan dammar. (Yufri Aldi, N.C. Sugiarso, Andreanus, A.A.S., Anna Setiadi Rantiurusa, 1996).Flafonoid menurut masduki, winarno dan sundari (1996) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* .Diduga penghambatan pertumbuhan *Salmonellan typhi* juga karena efek fenolik dari flafonoid yang terdapat dalam *Andrographis paniculata* .

Menurut Dwidjoseputro (1994), senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein. Protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi, sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri.

Proses perakitan dinding sel bakteri diawali dengan pembentukan rantai peptide

yang akan membentuk jembatan silang peptide yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Jika ada kerusakan pada dinding sel atau ada hambatan dalam pembentukannya dapat terjadi lisis pada sel bakteri sehingga bakteri segera kehilangan kemampuan membentuk koloni dan diikuti dengan kematian sel bakteri. Pada *Salmonella thypi* pemberian obat/antimikroba dapat menghambat perakitan dinding sel dan mengakibatkan penggabungan rantai glikan tidak terhubung silang ke dalam peptidoglikan dinding sel menuju suatu struktur yang lemah dan menyebabkan kematian bakteri (Morin dan Gorman, 1995).

Setiap senyawa yang menghalangi tahap apapun dalam sintesis peptidoglikan akan menyebabkan dinding sel bakteri diperlemah dan sel menjadi lisis (Jawetz *et al.*, 2001). Tanpa dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mati. Oleh karena itu, diduga adanya gangguan atau penghambatan pada perakitan dinding sel utuh yang tepat serta lisisnya dinding sel dapat menerangkan efek menghambat pertumbuhan bakteri dari ekstrak sambiloto. Dengan demikian diduga daya hambat sambiloto dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi dengan jalan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri.*

D. KESIMPULAN

1. Ada pengaruh pemberian ekstrak *Andrographis paniculata* dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *Salmonellan typhi.*
2. Perlakuan yang paling efektif adalah perlakuan 6 (konsentrasi ekstrak 40%) yang memberikan daya hambat terbaik terhadap pertumbuhan *Salmonellan typhi.*

E. DAFTAR PUSTAKA

Singgih Santoso,2000, SPSS (Statistical Product and Service Solutions), Elek Media Komputindo, Jakarta

E.Jawettz, J.L.Menlick&E.A. Adelberg,1984, Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan, EGC,Jakarta

Adji sastrosuoadi,1977, Statistik Percobaan, Balitbang departemen pertanian.,Jakarta

Hasir, Jursan Farmasi, FMIPA UNHAS, 1988 http://www.pdpersi.co.id/?show=detailnews&kode=971&tbl=alternatif

W. Sugiyarto. Fak. Farmasi UGM 1978 http://www.pdpersi.co.id/?show=detailnews&kode=971&tbl=alternatif

Syamsuhidayat,S.S., Hutapea ,J.R., 1991, Inventaris tanaman obat Indonesia, jilid I, Badan penelitian dan pengembangan kesehatan , departemen kesehatan Republik Indonesia , hal.54,55.

Morin, RB & Gorman M., 1995, *Kimia dan Biologi Antibiotik* b-*Lactam (Chemistry and Biology of* b-*Lactam Antibiotics).* Edisi III. Diterjemahkan oleh MulyaniS, IKIP Semarang Press, Semarang.

Ashkenazi et al, 2002 http: // ummusalma. wordpress.com/2007/01/22/hello-world/

Darmowandowo, 2006 http:// ummusalma. wordpress.com/2007/01/22/hello-world/

Ahyar wahyudi,2009, http:// ahyarwahyudi.wordpress.com/2009/02/22/konsep-dasar-demam-typoid/

Dian Sundari, M. Wien Winarno Informasi Tumbuhan Obat sebagai Anti Jamur *Pusat Penelitian dan Pengembangan, Badan Penelitian dan Pengembangan*

Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, Jakarta

http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/11InformasiTumbuhanObatsebagaiAntiJamur130.pdf/11InformasiTumbuhanObatsebagaiAntiJamur130.html

Soetamo,http://www.fmipa.itb.ac.id/jms/file/JMS%20Vol%204-2%20Soediro%20Soetarno.pdf

Yufri Aidi, N.C. Sugiarso, Andreanus, AA.S., Anna Setiadi Ranti, Jurusan Farmasi FMIPA, ITB, Warta Tumbuhan Obat Indonesia vol. 3 No. 1, 1996).

http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=152

M. Yusron, M. Januwati dan E. Rini Pribadi, Budidaya Tanaman Sambiloto, Badan Penelitian dan Pengembangan pertanian, http://www.balittro.go.id

Kuspriyadi, 2008, Demam Typoid, http://manglufti.wordpress.com/2008/03/05/ demam-typoid

Ronalld,A.S, Richard, A.M, Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium, Edisi 11, EGC, 2002

Robert R. Harr, Resensi Ilmu Laboratorium Klinis,EGC, 1997

Arif M, Suprohaita, Wahyu Ika W, Wiwiek S, Kapita Selekta Kedokteran, Edisi Ketiga, Media Aesculapius,2008

Vincent Gaspersz, 1995,Teknik Analisis Dalam Penelitian Percobaan 1, Tarsido, Bandung.

Dwijoseputro, D., 1998, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, cet 13, Djambatan, Jakarta.