

PERTUMBUHAN *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI FESES ANAK AYAM BROILER TERHADAP EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.)

The Effect of Bay Leaf (Syzygium polyanthum [Wight.] Walp.) Extract on the Growth of Escherichia coli Isolated from Broiler Chicks Feces

Suci Nurul Hidayati^{1*}, Darmawi², Rosmaidar³, T. Armansyah³, Maryulia Dewi², Faisal Jamin², dan Fakhurrazi²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding author: shucy_fkhusk@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak daun salam terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* (*E. coli*) yang diisolasi dari feses anak ayam broiler. Sebanyak lima ekor anak ayam broiler yang berasal dari Kota Banda Aceh digunakan dalam penelitian ini. Daun salam yang digunakan berasal dari Banda Aceh (Aceh) dan Pariaman (Sumatera Barat). Kemudian dilakukan identifikasi pada feses anak ayam broiler. Setelah didapatkan bakteri *E. coli* kemudian dilakukan uji Kirby Bauer terhadap *E. coli* dengan menggunakan ekstrak daun salam. Ekstrak daun salam diencerkan dengan menggunakan larutan *carboxymethyl cellulose* (CMC) 1%, dibuat dalam konsentrasi 25, 50, dan 75%. Kemudian cakram kertas dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak daun salam dengan berbagai konsentrasi. Biakan *E. coli* yang tumbuh pada *nutrient broth* (NB) dilakukan swab merata pada permukaan media *Mueller Hinton agar* (MHA), kemudian dibiarkan kira-kira 5 menit. Cakram kertas yang telah direndam dalam berbagai konsentrasi ekstrak daun salam (P1, P2, P3) dan antibiotik kloramfenikol 30 mg sebagai kontrol positif (P0) ditempelkan pada permukaan lempengan MHA yang telah diberi *E. coli*. Lempengan MHA diinkubasikan pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasil yang didapat pada ekstrak daun salam dari Banda Aceh pada P0, P1, P2, dan P3 masing-masing adalah 16,0; 0,0; 0,0; dan 0,0 mm sedangkan hasil dari ekstrak daun salam yang didapat dari Pariaman pada P0, P1, P2, dan P3 masing-masing adalah 15,6; 0,0; 0,0; dan 0,0 mm. Kesimpulan dari penelitian ini ekstrak daun salam tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Kata kunci: daun salam, *Escherichia coli*, anak ayam broiler

ABSTRACT

This study aims to find out the effect of bay leaf extract on the growth of *Escherichia coli* (*E. coli*) isolated from broiler chicks feces. A total of 5 broiler chicks from Banda Aceh were used in this study. Bay leaf used in this research was from Banda Aceh (Aceh) and Pariaman (West Sumatra). Bacteria identification was then carried out to broiler chicks feces. Once *E. coli* was identified, subsequently, Kirby Bauer method was done on *E. coli* using bay leaf extract. Bay leaf extract was diluted with 1% CMC to the concentration of 25%, 50%, and 75%. Then the paper disc was inserted into a test tube containing bay leaf extract with various concentrations. *E. coli* cultures grown in *nutrient broth* (NB) were then swab on the surface of *Mueller Hinton agar* (MHA) media. Paper discs that had been soaked in various concentrations of bay leaf extract (P1, P2, and P3) and 30 mg chloramphenicol antibiotic as a positive control (P0) were stick to the surface of MHA plates added *E. coli*. The MHA media were then incubated at 37° C for 24 hours. The results showed that the inhibition zone of bay leaf extracts from Banda Aceh on P0, P1, P2, and P4 were 16 mm, 0 mm, 0 mm, and 0 mm, while the inhibition zone of bay leaf extract obtained from Pariaman were 15.6 mm, 0 mm, 0 mm, and 0 mm, respectively. In conclusion, bay leaf extract do not inhibit the growth of *E. coli*.

Key words: bay leaf, *Escherichia coli*, broiler chick

PENDAHULUAN

Ayam broiler (ayam pedaging) merupakan jenis ternak yang banyak dikembangkan sebagai sumber pemenuhan kebutuhan protein hewani. Ayam broiler merupakan ternak ayam yang paling cepat pertumbuhannya karena ayam broiler merupakan hasil budidaya yang menggunakan teknologi maju sehingga memiliki sifat-sifat ekonomi yang menguntungkan. Broiler adalah istilah untuk menyebut ayam hasil budidaya teknologi yang memiliki karakteristik ekonomis, dengan ciri khas pertumbuhan cepat sebagai penghasil daging, konversi pakan irit, siap dipotong pada usia relatif muda, serta menghasilkan daging berkualitas serat lunak (Murtidjo, 1987).

Ayam ini juga rentan terhadap mikroorganisme, salah satunya yaitu bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). Menurut Kabir (2010), reservoir *E. coli* adalah saluran

pencernaan hewan, termasuk unggas. Pada ayam terdapat sekitar 10^9 colony forming units (cfu) bakteri per gram feses dan 10^6 cfu merupakan bakteri *E. coli*. Bakteri *E. coli* juga sering diisolasi dari saluran pernapasan bagian atas dan juga didapatkan dari kulit unggas dan bulu. Salah satu bakteri penyebab diare adalah bakteri *E. coli*.

Dewanti dan Wahyudi (2011) menjelaskan bahwa *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, tumbuh baik pada *MacConkey agar* (MCA) dengan koloni berbentuk bulat dan cembung, bersifat memfermentasikan laktosa. *Escherichia coli* memiliki panjang sekitar 2 µm, diameter 0,7 µm, lebar 0,4-0,7 µm, dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz et al., 2007).

Salah satu jenis tumbuhan yang potensial dijadikan sebagai antibakteri yaitu daun salam. Daun salam

potensial dijadikan sebagai antibakteri berdasarkan kandungan kimia di dalamnya yang memiliki senyawa antibakteri untuk membunuh bakteri patogen. Dalam pengobatan, daun salam berkhasiat untuk pengobatan diare (Siswandi, 2006). Di samping itu, daun salam mempunyai efek yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare (Wiryawan *et al.*, 2007). Selain sebagai antibakteri, daun salam juga bermanfaat untuk mengurangi penyakit kanker. Salah satu fitonutrien yang terkandung dalam daun salam adalah *parthenolid* dan secara khusus menahan proliferasi sel-sel kanker serviks (Elshabrina, 2013).

Dari beberapa penelitian disebutkan bahwa tanaman salam banyak mengandung bahan kimia berupa minyak atsiri, tanin, dan flavonid (Dalimarta, 2005), saponin, terpenoid, polifenol, dan alkaloid (Utami, 2008). Minyak atsiri, tanin, flavonoid, alkaloid senyawa polifenolat diketahui memiliki sifat antibakteri (Juliantina *et al.*, 2007).

MATERI DAN METODE

Sampel dalam penelitian ini adalah isolat *E. coli* yang diisolasi dari feses lima ekor anak ayam broiler berumur lima hari yang diperoleh dari peternak ayam broiler di Banda Aceh. Daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) diperoleh dari Banda Aceh (Aceh) dan Pariaman (Sumatera Barat).

Ekstraksi Daun Salam

Daun salam segar dibersihkan dan ditimbang sebanyak 2 kg, lalu dikering-anginkan selama beberapa hari, kemudian dihaluskan sampai menjadi serbuk menggunakan blender. Serbuk kemudian dimaserasi dengan larutan metanol 70% dan diambil filtratnya dengan penyaringan. Perendaman diulangi lagi, perendaman dihentikan sampai larutan berwarna bening lalu hasil saringan diuapkan dalam *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental (Warman, 1990).

Isolasi dan Identifikasi Bakteri *E. coli* dari Feses DOC Ayam Broiler

Satu gram feses *day old chick* (DOC) ayam broiler dimasukkan ke dalam media *nutrient broth* (NB) dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37° C. Kemudian dengan menggunakan ose steril diambil biakan bakteri yang tumbuh pada NB, digoreskan pada media *nutrient agar*, inkubasikan selama 24 jam pada suhu 37° C. Diamati bentuk koloni dan dilakukan pewarnaan Gram, dilanjutkan dengan penanaman pada media MCA dan media *eosin methylene blue* (EMB). Untuk lebih memastikan bakteri yang tumbuh adalah *E. coli* maka dilakukan uji biokimia, koloni bakteri terpisah yang tumbuh pada media EMB ditanam ke media *triple sugar iron agar* (TSIA), indol, *sulfide indole motility* (SIM), *methyl red* (MR), *Voges-Proskauer* (VP), *Simmon's citrate agar*, dan uji gula-gula (glukosa, laktosa, sukrosa, dan manitol). Kemudian diinkubasikan pada suhu 37° C selama 24 jam dan diamati perubahan yang terjadi pada media.

Tahap uji Kepekaan Bakteri *E. coli* dengan Metode Kirby Bauer

Sebanyak 1 g *carboxymethyl cellulose* (CMC) dimasukkan dalam 99 ml air. Ekstrak daun salam diencerkan dengan menggunakan larutan CMC 1%, dibuat dalam konsentrasi 25, 50, dan 75%. Kemudian cakram kertas dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak daun salam dengan berbagai konsentrasi. Biakan *E. coli* yang tumbuh pada NB dilakukan *swab* merata pada permukaan media *Mueller Hinton agar* (MHA), kemudian biarkan kira-kira 5 menit. Kertas cakram yang telah direndam dalam berbagai konsentrasi ekstrak daun salam dan antibiotik kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif ditempelkan pada permukaan lempengan MHA yang telah diberi *E. coli*. Inkubasi lempengan MHA pada suhu 37° C selama 24 jam (Lay dan Hastowo, 1994). Setelah pengujian, diukur dan dibandingkan dengan kontrol positif kloramfenikol.

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Daun Salam

Hasil ekstraksi 1 kg daun salam yang telah dikering-anginkan selama lima hari dengan memakai metode maserasi menggunakan pelarut metanol 70% didapatkan ekstrak murni sebanyak 25 g. Ekstrak berwarna hitam kehijauan, dengan bau khas aromatik, dan berkonsistensi kental.

Hasil Identifikasi *E. coli*

Identifikasi isolat *E. coli* yang berasal dari feses anak ayam broiler yang menderita diare, dibiakkan pada media MCA, didapatkan hasil berupa koloni yang berwarna kemerahan menyebar keruh. Menurut Dewanti dan Wahyudi (2011), bakteri *E. coli* tumbuh baik pada MCA dengan koloni berbentuk bulat dan cembung.

Selanjutnya isolat bakteri *E. coli* dibiakkan pada media EMB, didapatkan hasil berupa koloni berwarna hijau metalik, permukaan koloni cembung dengan pinggiran rata yang khas ditunjukkan oleh *E. coli*. Hal ini sesuai dengan pendapat Suardana *et al.* (2007) bahwa EMB merupakan media diferensial tetapi selektif untuk membedakan *E. coli* dengan bakteri Gram negatif lainnya.

Hasil pewarnaan Gram, bakteri *E. coli* terlihat berbentuk batang pendek dan berwarna kemerahan. Uji Gram yang digunakan menunjukkan bahwa bakteri yang didapatkan merupakan bakteri Gram negatif karena hasil pengecatan berwarna merah. Menurut Fitrialdi (2011), bakteri *E. coli* tidak dapat mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan Gram dan bentuk selnya adalah batang.

Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa hasil dari uji *Simmon's citrate* positif. Hal ini ditunjukkan oleh perubahan warna biakan dari hijau menjadi biru karena terbentuknya natrium karbonat hasil reaksi enzimatis

yang mengubah indikator bromtimol biru pada media (Kusuma, 2009).

Uji indol positif ditandai dengan terbentuknya cincin yang berwarna merah *cerry* di permukaan biakan apabila ditambahkan dengan beberapa tetes Kovac's yang terdiri atas p-dimetilaminobenzaldehid, butanol, dan asam. Uji ini menggunakan media *tryptone broth* yang mengandung substrat triptofan. Reaksi positif terjadi karena triptofan dikonversi menjadi indol (Kusuma, 2009).

Pada uji TSIA menunjukkan hasil positif. Hal ini ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna media. Uji TSIA bertujuan membedakan jenis bakteri berdasarkan kemampuan memecah glukosa, laktosa, sukrosa, dan pembebasan sulfida. Selain itu, uji TSIA berfungsi mengetahui bakteri tersebut menghasilkan gas H₂S atau tidak (Kusuma, 2009).

Pada uji MR-VP menunjukkan hasil positif. Hal ini ditandai dengan terjadi perubahan warna merah bata pada media. Uji MR digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran. Uji VP digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri tersebut menghasilkan produk akhir yang netral dari fermentasi glukosa (Raihana, 2011).

Pada uji SIM menunjukkan hasil positif. Hal ini ditandai dengan tumbuhnya kecambah pada media. Media ini biasanya digunakan dalam identifikasi yang cepat. Dari uji indol didapatkan hasil yang negatif, karena tidak terbentuk lapisan (cincin) berwarna merah muda pada permukaan biakan, artinya bakteri ini tidak membentuk indol dari triptofan sebagai sumber karbon, yang dapat diketahui dengan menambahkan larutan Kovacs. Asam amino triptofan merupakan komponen asam amino yang lazim terdapat pada protein, sehingga asam amino ini dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme akibat penguraian protein. Hasil positif ditunjukkan terbentuk warna hitam yang berarti bakteri menghasilkan gas hidrogen sulfid (H₂S) dan cincin indol berwarna merah muda setelah penambahan reagen Kovacs (Pelczar dan Chan, 1988).

Hasil uji gula-gula menunjukkan hasil yang positif dengan ditandai dengan perubahan warna menjadi warna kuning. Uji gula-gula (sukrosa, manitol, glukosa, laktosa) bertujuan melihat adanya kemampuan mikroorganisme dalam fermentasi gula-gula tersebut.

Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Salam terhadap *E. coli*

Hasil uji daya hambat ekstrak metanol daun salam yang diperoleh dari Banda Aceh terhadap bakteri *E. coli* yang diisolasi dari feses anak ayam broiler dengan menggunakan metode *Kirby Bauer* seperti ditunjukkan

pada Tabel 1 dan hasil uji daya hambat ekstrak metanol daun salam yang diperoleh dari Pariaman terhadap bakteri *E. coli* yang diisolasi dari feses anak ayam broiler dengan menggunakan metode *Kirby Bauer* seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa ekstrak daun salam tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, dilihat dari tidak adanya zona bening yang terbentuk. Keseluruhan prosedur ini telah diulang sebanyak dua kali ulang membuat ekstrak dan sembilan kali ulang melakukan uji *Kirby Bauer*. Namun, hasil yang didapatkan selalu menunjukkan bahwa semua konsentrasi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Hal ini kemungkinan disebabkan karena konsentrasi zat aktif yang terdapat di daun salam kecil. Menurut Jawetz *et al.* (2007), efektivitas suatu zat antimikrob dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut.

Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol, yaitu senyawa baik alami maupun sintetis yang mempunyai efek menekan atau menghentikan proses biokimia pada organisme khusus dalam proses infeksi oleh bakteri, antibiotik bekerja dengan menekan satu mata rantai metabolisme bakteri sehingga ampuh membunuh dan menghambat bakteri *E. coli* (Hamdani, 2012).

Daun salam merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri dengan persentase yang bervariasi. Pada penelitian ini tidak diketahui jenis daun salam yang digunakan. Menurut Sembiring *et al.* (2003), daun salam dari Sukabumi mengandung minyak atsiri sebesar 0,023%, sedangkan dari Bogor 0,018%. Hal ini kemungkinan berpengaruh terhadap kadar zat-zat antimikrob yang terdapat pada jenis daun salam tersebut.

Menurut Siwiyanti (2009), pengeringan merupakan tahap pengolahan tanaman obat yang perlu mendapat perhatian karena akan berpengaruh terhadap mutu simplisia dan zat berkhasiat yang ada di dalamnya. Kadar tanin yang terdapat pada daun salam melalui berbagai metode pengeringan (metode kering matahari, kering angin, dan kering oven 50° C) ternyata didapatkan kadar air terendah (6,35%) dan kadar tanin tertinggi (10,70%) pada simplisia metode kering oven 50° C. Penelitian ini menggunakan metode pengeringan dengan angin, hal ini memungkinkan kadar tanin yang terdapat pada daun salam menjadi rendah sehingga belum cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu komponen *solute* (cair) dari campurannya menggunakan sejumlah pelarut sebagai tenaga pemisah. Tujuan dari ekstraksi

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak metanol daun salam yang diambil di Banda Aceh dan Pariaman terhadap bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter rata-rata zona hambat (mm)	
	Daun salam asal Banda Aceh	Daun salam asal Pariaman
P ₀ (kloramfenikol)	16	15,6
P ₁ (ekstrak metanol daun salam konsentrasi 25%)	0	0
P ₂ (ekstrak metanol daun salam konsentrasi 50%)	0	0
P ₃ (ekstrak metanol daun salam konsentrasi 75%)	0	0

adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman melalui mekanisme pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Jenis ekstraksi dan cairan mana yang sebaiknya digunakan sangat tergantung dari kelarutan bahan kandungan serta stabilitasnya (Utami, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian, daun salam tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh jenis dan asal daun salam (memengaruhi persentase zat-zat yang terdapat pada daun salam), metode pengeringan dan metode ekstraksi yang tidak efektif sehingga zat-zat yang terlarut didalam ekstrak daun salam tidak dapat mencapai kadar yang maksimal.

KESIMPULAN

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun salam tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diisolasi dari feses anak ayam broiler.

DAFTAR PUSTAKA

- Dalimartha, S. 2005. **Atlas Tumbuhan Obat Indonesia**. Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Dewanti, S. and M.T. Wahyudi. 2011. Antibacteri activity of bay leaf infuse (*Folia Syzygium polyanthum* Wight) to *Escherichia coli* in-vitro. **J. Med. Planta**. 1(4):78-81.
- Elshabrina. 2013. **Dahsyatnya Daun Salam Sepanjang Masa**. Cemerlang Publishing, Yogyakarta.
- Fitrinaldi. 2011. *Microbial Fuel Cell* sebagai Energi Alternatif Menggunakan Bakteri *Escheria coli*. **Artikel**. Program Studi Kimia Pasca Sarjana Universitas Andalas. Padang.
- Hamdani, T. 2012. Uji Sensitivitas Perasan Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* L) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. **Karya Tulis Ilmiah**. Pemerintah Aceh, Akademi Analisis Kesehatan. Banda Aceh.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg, G.F. Brooks, J.S. Butel, dan L.N. Ornston. 2007. **Mikrobiologi Kedokteran**. (Diterjemahkan Hartanto, H., C. Rachman, A. Dimanti, dan A. Diani). Edisi ke-20. ECG. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Juliantina, F., D.A. Citra, T. Nirwani, Nurmasitoh, dan E.T. Bowo. 2007. Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen antibakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. **J. Ked. Kesehatan Indonesia**. 1(1):13-17.
- Kabir, K.A. 2010. Dietary bioflavonoids inhibit *Escherichia coli* ATP synthase in a differential manner, **Int. J. Biol. Macromolecules**. 46:478-486.
- Kusuma, S.A.F. 2009. Uji Biokimia Bakteri. **Karya Ilmiah**. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. Bandung.
- Lay, R.W. dan Hastowo. 1994. **Mikrobiologi**. Edisi ke-1. Rajawali Press, Jakarta.
- Murtidjo, B.A. 1987. **Pedoman Beternak Ayam Broiler**. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Pelczar M.J. dan E.C.S. Chan. 1988. **Dasar-Dasar Mikrobiologi** (Diterjemahkan Hadioetomo, R.S.). Edisi ke-2. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Raihana, N. 2011. Profil Kultur dan Uji Sensitivitas Bakteri Aerob dari Infeksi Luka Operasi Laparotomi di Bangsal Bedah RSUP DR. M Djamil Padang. **Artikel**. Program Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Sembiring B.S., C. Winarti, dan B. Baringbing. 2003. Identifikasi Komponen Kimia Minyak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) dari Sukabumi dan Bogor. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. <http://minyaksirsiriindonesia.wordpress.com/minyak-daun-salam/b-sofianna-sembring-dkk/>.
- Siswandi. 2006. **Budidaya Tanaman Obat**. Citra Aji Parama, Yogyakarta.
- Siwiyanti. 2009. Penentuan Kadar Tanin Daun Salam (*Eugenia polyantha* [Wight.] Walp.) dengan Metode Lowenthal-Procter pada Variasi Metode Pengeringan. **Skripsi**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surakarta. Surakarta.
- Suardana I.W., B. Sumiarto, dan D.W. Lukman. 2007. Isolasi dan identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 pada daging sapi di Kabupaten Badung Provinsi Bali. **J. Vet**. 8(1):16-23.
- Utami, W.I. 2008. Efek Ekstraksi Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan Galur Balb-c yang Diinduksi dengan Kalium Oksonat. **Skripsi**. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Warman, B. 1990. Uji Mikrobiologi Ekstrak *Eugenia polyantha folium* terhadap Bakteri Penyebab Diare secara *In Vitro*. **Skripsi**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Padang.
- Wiryanawan K.G., S. Luvianti, W.S. Hermana, dan Suharti. 2007. Peningkatan performa ayam broiler dengan suplementasi daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) sebagai antibakteri *Escherichia coli*. **Media Peternakan**. 30(1):55-62.