

Efek Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosasinensis* L.) dan Siprofloksasin terhadap *Shigella dysenteriae* secara *In Vitro*

Combination Effect of Methanol Extract of *Hibiscus rosasinensis* L. Leaf and Ciprofloxacin against *Shigella dysenteriae* In Vitro

Billy Jusup Kurniawan¹, Muhammad Ali Shodikin^{2,3}, Bagus Hermansyah⁴

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²SMF Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jalan dr.Soebandi No. 124, Jember, Indonesia, 68111

³Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

⁴Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jalan Kalimantan No. 37, Jember, Indonesia, 68121

e-mail korespondensi: alipspd@unej.ac.id

Abstrak

Salah satu cara penanggulangan resistensi bakteri adalah kombinasi produk tanaman alam dengan antibiotik. Daun kembang sepatu terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*. Siprofloksasin merupakan antibiotik pilihan pertama untuk mengobati infeksi *Shigella dysenteriae*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak metanol daun kembang sepatu (*Hibiscus rosasinensis* L.) dan siprofloksasin terhadap bakteri *S. dysenteriae* secara *in vitro*. Jenis penelitian ini yaitu *quasi experimental design* dengan rancangan *posttest only control group design*. Penelitian ini menggunakan sembilan kelompok perlakuan (dengan variasi konsentrasi 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL, 16 µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL, dan 128 µg/mL, dikombinasi dengan siprofloksasin 5 µg / 5 µL) dan satu kelompok kontrol (hanya siprofloksasin 5 µg / 5 µL). Metode yang digunakan yaitu difusi sumuran. Data berupa diameter zona hambat di sekitar sumuran. Hasil uji menunjukkan bahwa kombinasi daun kembang sepatu dan siprofloksasin dapat menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* namun membentuk diameter zona hambat yang lebih kecil daripada siprofloksasin secara tunggal.

Kata Kunci: kombinasi, daun kembang sepatu, ciprofloxacin, *Shigella dysenteriae*

Abstract

One of way to preventing bacterial resistance is a combination of natural plant products with antibiotics. Hibiscus rosasinensis leaf proved to have antibacterial activity against Shigella dysenteriae. Ciprofloxacin is the first-choice antibiotic to treat Shigella dysenteriae infection. The purpose of this study was to determine the effect of methanol extract of Hibiscus rosasinensis leaves and ciprofloxacin against S. dysenteriae bacteria in vitro. The type of this study was quasi experimental design with posttest only control group design using nine treatment groups (with concentration variation of 0.5 µg / mL, 1 µg / mL, 2 µg / mL, 4 µg / mL, 8 µg / mL, 16 µg / mL, 32 µg / mL, 64 µg / mL, and 128 µg / mL with 5 µg / 5 µL ciprofloxacin) and one control group (only 5 µg / 5 µL ciprofloxacin). The method used was agar well diffusion. The data was the diameter of inhibition zone around the well. The results showed that the variant of hibiscus leaf concentration could inhibit the growth of Shigella dysenteriae but formed smaller inhibition zone diameter than ciprofloxacin alone.

Keywords: combination, hibiscus rosasinensis leaf, ciprofloxacin, *Shigella dysenteriae*

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara beriklim hujan tropis dengan tingkat kelembaban udara yang tinggi (*Relative Humidity* >80%) dan suhu rata-rata 28^o-33^oC. Hal tersebut menyebabkan negara Indonesia menjadi tempat yang potensial untuk perkembangbiakan mikroorganisme baik bakteri, virus, parasit maupun jamur. Salah satu bakteri yang bersifat patogen terhadap manusia yaitu *Shigella dysenteriae* yang mampu menyebabkan infeksi saluran pencernaan yang ditandai dengan diare akut yang disertai darah, lendir atau nanah (disentri basiler atau Shigellosis). Penyakit shigellosis bersifat endemik di berbagai negara berkembang termasuk Indonesia, sekitar 80 juta diare berdarah di dunia dengan 700.000 diantaranya meninggal dunia disebabkan oleh penyakit tersebut. Bahkan 99% infeksi yang disebabkan oleh *Shigella* muncul di negara berkembang dengan 60% kasusnya terjadi pada anak-anak di bawah usia 5 tahun (WHO, 2005). Sayangnya, resistensi *Shigella* terhadap ampisilin, kotrimoksazol, dan asam nalidixat telah berkembang luas sehingga obat-obat tersebut tidak direkomendasikan lagi (WHO, 2005; Nafianti, 2005). Hal tersebut menjadikan siprofloksasin sebagai antibiotik berspektrum luas yang menjadi pilihan pertama (*drug of choice*) pada semua kasus diare disertai darah termasuk yang disebabkan oleh bakteri patogen *S. dysenteriae* (Shigellosis) (WHO, 2005). *Shigella dysenteriae* merupakan salah satu bakteri yang sering mengalami resistensi sehingga kemungkinan *S. dysenteriae* untuk menjadi tidak sensitif lagi terhadap antimikrobanya di masa depan sangatlah besar. Hal tersebut didukung dengan adanya laporan di tahun 2003 dari beberapa negara (India, Bangladesh, Myanmar, dan Thailand) bahwa ditemukan *S. dysenteriae* yang resisten terhadap siprofloksasin dan fluorokuinolon lain (WHO, 2005; Talukder *et al.*, 2004). Berdasarkan hal tersebut, dibutuhkan solusi untuk mengatasi terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik di masa yang akan datang dengan cara mengkombinasikannya dengan tanaman yang mengandung antimikroba.

Salah satu tanaman obat yang memiliki efek terhadap kesehatan manusia yaitu kembang sepatu (*Hibiscus rosasinensis* L.). Kembang sepatu mengandung beberapa senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Studi sebelumnya membuktikan bahwa daun kembang sepatu dapat berpotensi menyembuhkan beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen (Agarwal dan Prakash, 2014). Daun dari kembang sepatu memiliki aktivitas antimikroba paling tinggi dalam menghambat beberapa patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Candida parapsilosis* hanya dengan konsentrasi yang rendah yaitu 2,5

µg/mL (Kumari *et al.*, 2015). Penelitian mengenai senyawa antibakteri dalam ekstrak daun kembang sepatu (*Hibiscus rosasinensis* L.) yang dikombinasikan dengan siprofloksasin belum pernah dilakukan sebelumnya. Produk alam yang melimpah ditambah meningkatnya kasus resistensi antibiotik mendasari peneliti untuk menguji secara *in vitro* efek kombinasi ekstrak daun kembang sepatu dan siprofloksasin terhadap *S. dysenteriae*.

Metode Penelitian

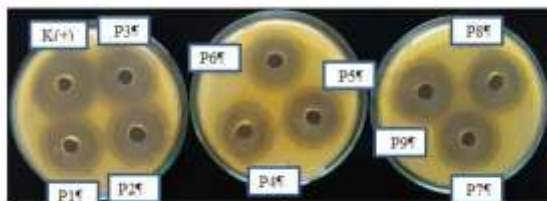
Jenis penelitian yang digunakan ialah penelitian semu (*quasi experimental design*) dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember, dikerjakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, sedangkan ekstraksi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Sampel dalam penelitian ini yaitu suspensi bakteri *S. dysenteriae* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jember yang disesuaikan dengan larutan standar 0,5 Mc Farland kemudian dibagi menjadi sepuluh kelompok yaitu kelompok kontrol positif (K+) yang hanya diberi siprofloksasin 5 µg /5µL dan kelompok perlakuan P1-P9 yaitu kombinasi ekstrak daun kembang sepatu dengan variasi konsentrasi (0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL, 16 µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL, dan 128 µg/mL) dan siprofloksasin 5 µg /5µL. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut berupa metanol 80%. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C agar pelarut yang tersisa menguap secara sempurna.

Uji kombinasi siprofloksasin dan ekstrak daun kembang sepatu dilakukan dengan metode difusi sumuran. Lidi kapas dicelupkan pada suspensi bakteri hingga seluruh bagian kapas tercelup. Selanjutnya lidi kapas diusap pada seluruh permukaan media MHA secara merata. Kemudian media didiamkan 3-5 menit pada suhu ruang. Kemudian dibuat sumuran dengan besi pelubang media dan dilakukan pelabelan di bagian bawah *plate* sesuai jumlah kelompok. Siprofloksasin sebanyak 50 µL dengan konsentrasi 5 µg/5 µL dimasukkan pada *well* A1-H2 di *microtiter plate*. Kemudian 50 µL ekstrak daun kembang sepatu dengan berbagai konsentrasi dimasukkan pada *well* yang sudah berisi siprofloksasin tadi secara berurutan lalu dilakukan *pipetting* agar kedua larutan tercampur merata. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Penilaian pH pada tiap kelompok dilakukan dengan menggunakan *pH Universal Test*. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong pada daerah jernih di sekitar sumuran setelah inkubasi. Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah diameter zona hambat yang kemudian dianalisis secara komputerisasi menggunakan perangkat lunak program statistik. Sampel dianalisis dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji *Lavene* dan dilanjutkan uji parametrik *One Way ANOVA*.

Hasil Penelitian

Penelitian telah berhasil dilakukan dan didapatkan ekstrak daun kembang sepatu sebanyak 41,07 gram dengan warna hijau kehitaman dan konsistensi agak kental. Hasil penilaian pH menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki pH sebesar 7 (netral). Hasil kombinasi ekstrak daun kembang sepatu dan siprofloksasin yang mewakili setiap kelompok uji dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil penelitian kombinasi siprofloksasin dan ekstrak daun kembang sepatu terhadap *S. dysenteriae* pada media MHA

Data penelitian berupa rerata diameter zona hambat tiap kelompok yang disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 2.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat kombinasi siprofloksasin dan ekstrak daun kembang sepatu secara in vitro

Kelompok	Rerata-rata diameter zona hambat (mm)±SD
K(+)	32,53±0,22
P1	26,01±0,16
P2	26,34±0,08
P3	26,56±0,18
P4	26,94±0,04
P5	27,01±0,09
P6	27,36±0,06
P7	27,90±0,15
P8	28,32±0,09
P9	29,04±0,24

Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan $p>0,05$ yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan memiliki varian yang sama. Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antar semua kelompok ($p=0,000$), sedangkan hasil uji *LSD* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar semua kelompok kecuali pada P2 terhadap P3 dan kelompok P4 terhadap P5. *Power analysis* dari penelitian ini sebesar 0,19 sehingga pembuktian perbedaan antar kelompok yang dilihat berdasarkan data yang dimiliki tidak adekuat.

Pembahasan

Hasil rata-rata diameter zona hambat oleh siprofloksasin sebesar 32,53 mm sehingga hal tersebut menunjukkan bahwa *S. dysenteriae* yang digunakan pada penelitian masih sensitif terhadap siprofloksasin. Kelompok P1 memiliki rata-rata diameter zona hambat paling kecil yaitu sebesar 26,01 mm, sedangkan kelompok P9 memiliki rata-rata diameter zona hambat paling besar yaitu 29,04 mm. Hal ini terjadi karena kelompok P9 mengandung ekstrak daun kembang sepatu paling tinggi (128 µg/mL) yang memiliki kandungan senyawa antibakteri paling banyak sehingga mampu membentuk diameter zona hambat paling besar dibandingkan kelompok perlakuan yang lain. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Nugraha (2016) yang membuktikan bahwa semakin besar suatu konsentrasi zat antibakteri maka semakin besar juga daya antibakteri yang terkandung di dalamnya.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun kembang sepatu sudah pernah dilakukan sebelumnya. Pada penelitian Kumari *et al.* (2015) membuktikan bahwa ekstrak daun kembang sepatu memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 10 µg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 16 mm. Aktivitas antibakteri tersebut terjadi karena ekstrak daun kembang sepatu memiliki beberapa senyawa antibakteri seperti flavonoid, saponin dan tanin. Mekanisme flavonoid dalam membunuh bakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat dan merusak membran sel bakteri baik lapisan luar maupun dalam (Chusnie dan Lamb, 2005). Kerusakan membran bakteri diakibatkan oleh larutnya lemak yang terdapat pada dinding sel. Senyawa ini mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak (Rohyani, 2015).

Mekanisme saponin sebagai antibakteri yaitu menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas sel meningkat dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma dan mengganggu kestabilannya. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel sehingga sel bakteri mati (Ngajow *et al.*, 2013). Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri (Mariyani, 2016; Ajizah, 2004). Menurut Ngajow (2013), tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna.

Kelompok P1-P9 memiliki diameter zona hambat yang lebih kecil dibandingkan kontrol positif yang mengandung siprofloksasin saja. Hal tersebut terjadi karena ekstrak daun kembang sepatu memiliki mekanisme kerja sebagai agen bakteriostatik, sedangkan siprofloksasin bersifat bakterisidal (Katzung *et al.*, 2013). Flavonoid, saponin dan tanin pada ekstrak daun kembang sepatu bersifat bakteriostatik terhadap *Shigella dysenteriae* (Chung *et al.*, 2010), sedangkan siprofloksasin bersifat bakterisidal karena menghambat aktivitas enzim DNA gyrase dan topoisomerase IV (Katzung *et al.*, 2013). Kombinasi dari dua antibakteri yang memiliki sifat yang berbeda (bakteriostatik dan bakterisidal) mungkin menghasilkan efek antagonis (Brooks *et al.*, 2013), hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Ocampo *et al.* (2014) yang menyimpulkan bahwa kombinasi antibakteri bakteriostatik dan bakterisidal dapat menyebabkan interaksi antagonis yang sangat kuat.

Antibakteri yang bersifat bakteriostatik mampu mengantagonis kerja antibakteri yang bersifat bakterisidal karena antibakteri bakterisidal bekerja pada sel-sel bakteri yang aktif tumbuh sedangkan antibakteri bakteriostatik justru menghentikan proses pertumbuhan bakteri tersebut (Katzung *et al.*, 2013; Ocampo *et al.*, 2014). Menurut Ocampo *et al.* (2014) menyatakan bahwa mekanisme kerja yang berbeda antara dua antibakteri yang dikombinasikan kemungkinan juga menghasilkan interaksi yang bersifat antagonis. Selain itu, hasil diameter zona hambat pada kelompok perlakuan yang belum dapat melampaui kontrol positif pada penelitian ini kemungkinan juga disebabkan karena ekstrak kasar masih mengandung berbagai senyawa yang dapat mempengaruhi aktivitas antibiotik untuk menjadi senyawa tidak aktif

sehingga akan berpengaruh juga terhadap kombinasi antara antibiotik dan ekstrak (Ayu, 2013).

Shigella dysenteriae sebagai bakteri Gram negatif cenderung lebih resisten terhadap zat antibakteri karena struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram positif sehingga mempersulit senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel *S. dysenteriae*. Struktur dinding sel bakteri *S. dysenteriae* lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, dan membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam) dan lipopolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipid A yang bersifat nonpolar sehingga penetrasi senyawa hidrofilik flavonoid, saponin dan tanin ke dalam membran sel dicegah oleh sifat lipid yang dimilikinya. Pada bagian membran luar, protein transmembran dan membran sitoplasma *S. dysenteriae* terdapat saluran (*channel*) khusus mengandung protein yang disebut porin sebagai *efflux pump*. Saluran tersebut mempersulit masuknya molekul-molekul besar seperti antibakteri atau bahkan membuang keluar antibakteri yang berada di dalam sel (Sudewi *et al.*, 2016; Octarina, 2010). Terdapat 2 tipe *efflux pump* yang dikenal sebagai faktor penyebab dari resistensi tersebut yaitu OqxAB dan Qep. Kedua *efflux* tersebut dapat muncul apabila terjadi mutasi gen QepA pada bakteri Gram negatif (Dalhoff, 2012). Adanya beberapa hal tersebut menyebabkan senyawa antibakteri pada ekstrak daun kembang sepatu lebih sulit untuk masuk ke dalam sel *S. dysenteriae* atau bahkan aktivitas antibakterinya tidak bekerja sama sekali.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengukuran pH untuk mengetahui pengaruhnya terhadap hasil penelitian. Berdasarkan hasil penelitian, kelompok perlakuan P1-P9 memiliki pH sebesar 7 yang menandakan bahwa larutan tersebut bersifat netral. Bakteri *Shigella dysenteriae* tumbuh dengan baik pada rentang pH 6,4-7,8 dengan suhu pertumbuhan optimal pada 37°C dan mulai mengalami kematian pada pH diatas 9 atau dibawah 5 (Brooks *et al.*, 2013) sehingga pH pada penelitian ini mendukung pertumbuhan dari bakteri tersebut dan tidak menyebabkan bias pada penelitian.

Kesimpulan

Kombinasi ekstrak daun kembang sepatu dengan konsentrasi 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL, 4

µg/mL, 8 µg/mL, 16 µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL, 128 µg/mL dan siprofloksasin sebesar 5 µg/5µL dapat menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* namun diameter zona hambat yang terbentuk lebih kecil daripada siprofloksasin secara tunggal.

Daftar Pustaka

- Agarwal S, dan Prakash R. 2014. Evaluation of antibacterial activity of Hibiscus rosa-sinensis flower extract against *E. coli* and *B. subtilis*. *Biological Forum*. 6(2):194-196.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. *Skripsi*. Banjarmasin: Universitas Lambung Mangkurat.
- Ayu DP. 2013. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale* L.) Dan Vankomisin Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Brooks GF, Carrol C, Butel JS, Morse SA, dan Mietzer TA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, dan Adelberg*. Edisi 26. USA: Mc Graw Hill Lange
- Chung KT, Wong TY, Wei C, Huang YW, dan Lin Y. 2010. Tannins and human health. *Review* 38(6):421-464.
- Chusnie TPT, dan Lamb AJ. 2005. Review antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 343-356.
- Dalhoff A. 2012. Global Fluoroquinolone Resistance Epidemiology and Implications for Clinical Use. *Review Article Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. 20(12): 1-37.
- Katzung BG, Masters SB, dan Trevor AJ. 2013. *Farmakologi Dasar Dan Klinik*. Edisi 12. Jakarta: EGC
- Kumari OI, Rao NB, Reddy K. 2015. Phyto-chemical analysis and anti-microbial activity of *Hibiscus rosa-sinensis*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 4(5): 766-771.
- Mariyani. 2016. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), Bunga Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.), Dan Bunga Sepatu Kuncup (*Malvaviscus arboreus* Cav.) Terhadap *Candida albicans*. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Nafianti S, dan Sinuhaji AB. 2005. Resisten Trimetoprim-Sulfametoksazol terhadap Shigellosis. *Sari Pediatri*. 7(1): 39-44.
- Nugraha S.A. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mirabilis Jalapa Terhadap Pertumbuhan Koloni *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Jember: Universitas Negeri Jember.
- Ngajow M, Abidjulua J, dan Kamu VS. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 2(2): 128-132.
- Ocampo PS, Lázár V, Papp B, Arnoldini M, Wiesch P, Busa-Fekete R, Fekete G, Pál C, Ackermann M, dan Bonhoeffer S. 2014. Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *AAC* 58(8): 4573-4582
- Octarina NA. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Jember: Universitas Negeri Jember.
- Rohyani IS, dan Suropto EA. 2015. Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di Pulau Lombok. *Jurnal Ilmiah*. 1(2): 388-391.
- Sudewi S, dan Lolo WA. 2016. Kombinasi ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* 4(2): 36-42.
- Talukder KA, Khajanchi BK, Islam MA, Dutta DK, Islam Z, Safa A, Khan GY, Alam K, Hossain MA, Malla S, Niyogi SK, Rahman M, Watanabe H, Nair GB, dan Sack DA. 2004.

Genetic relatedness of ciprofloxacin-resistant *Shigella dysenteriae* type 1 strains isolated in south Asia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 54: 730–734.

World Health Organization (WHO). 2005. *Guidelines for The Control of Shigellosis, Including Epidemics due to Shigella Dysenteriae Type 1*. Switzerland: WHO.