

## Uji Efektivitas Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*) terhadap Pertumbuhan *Enteropathogenic Escherichia coli* dan *Enterotoxigenic Escherichia coli*

Efectivity Test of Lerak Fruit (*Sapindus rarak*) Etil Asetat Extract and Etanol Extract on *Enteropathogenic Escherichia coli* and *Enterotoxigenic Escherichia coli* Growth

Yusianti Silviani<sup>1</sup>, Andriyani Puspitaningrum<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akademi Analisis Kesehatan Nasional, email: yusianti.silviani@gmail.com

<sup>2</sup>Akademi Analisis Kesehatan Nasional, email: andriyani.pn@gmail.com

### ABSTRAK

Diare merupakan masalah kesehatan di negara berkembang salah satunya Indonesia. *Escherichia coli* (ETEC dan EPEC) merupakan salah satu bakteri penyebab diare. Buah lerak memiliki kandungan antimikroba yaitu saponin, alkaloid, polifenol, flavonoid dan tanin sehingga dimungkinkan dapat berperan sebagai antibakteri untuk *Escherichia coli* (ETEC dan EPEC). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak etil asetat dan etanol buah lerak terhadap EPEC dan ETEC.

Penelitian ini dilakukan dengan desain analitik eksperimental (post test with control). Populasi penelitian ini adalah buah lerak (*Sapindus rarak*) yang dijual di kota Surakarta dengan teknik sampling kuota sampling.

Hasil penelitian didapatkan bahwa nilai KHM ekstrak etil asetat dan etanol tidak dapat disimpulkan, nilai KBM ekstrak etil asetat terhadap EPEC adalah 25%, ekstrak etil asetat terhadap ETEC adalah 50% ekstrak etanol terhadap EPEC dan ETEC adalah 100% terdapat perbedaan daya hambat ekstrak etil asetat dan etanol terhadap EPEC dan ETEC. Hasil uji ANOVA p-value sebesar 0,004. Ada perbedaan daya hambat ekstrak etil asetat dan etanol terhadap EPEC dan ETEC. Daya hambat paling besar didapatkan pada ekstrak etil asetat.

**Kata Kunci:** buah lerak, ETEC, EPEC, KHM, KBM, disk difusi

### ABSTRACT

Diarrhea is still health problems of people in developing countries as in Indonesia. The directly cause of diarrhea can be by bacterial infection such as bacteria *Escherichia coli* (*Enteropathogenic Escherichia coli* and *Enterotoxigenic Escherichia coli*). Lerak has antibacterial such as saponin, alkaloid, polifenol, flavonoid dan tanin. The purpose of this study was to determine the antibacterial activities of etil asetat extract and etanol extract of lerak (*Sapindus rarak*) on *Enteropathogenic Escherichia coli* and *Enterotoxigenic Escherichia coli*.

This research was an analytic experimental post test with control design. The population was lerak (*Sapindus rarak*) were sold in Surakarta, and sample was taken by quota sampling technique.

The results showed Minimal Killing Concentration of etil asetat extract for EPEC was 25%, ETEC was 50%. Minimal Killing Concentration of etanol extract for EPEC dan ETEC was 100% Minimal Inhibitory Concentration can be concluded for EPEC and ETEC. Based on the results of one way ANOVA test showed p value = 0.004. There was differences of lerak etil asetat extract and lerak etanol extract lerak on the growth of EPEC and ETEC.

**Keyword:** Lerak fruit, EPEC, ETEC, MIC, MKC, disk difussion

### PENDAHULUAN

Diare merupakan masalah kesehatan yang memiliki morbiditas dan mortalitasnya tinggi. Menurut WHO (2013) setiap tahun ditemukan 2 milyar kasus diare di dunia dan 1,9 juta menyerang anak berusia 5 tahun ke bawah. Di Negara berkembang seperti Indonesia, *Enteropathogenic*

*Escherichia coli* (EPEC) dan *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) merupakan penyebab diare yang paling sering. EPEC merupakan penyebab diare pada bayi dengan gejala klinis diare berair, muntah, dan demam. Diare tersebut dapat sembuh dengan sendirinya, namun dapat pula mengakibatkan enteritis kronis yang

mengganggu pertumbuhan balita (Johannes, 2012), sedangkan ETEC merupakan penyebab diare pada wisatawan dan anak. Beberapa strain ETEC menghasilkan enterotoksin yang dapat bersifat termostabil maupun termolabil (Jawetz *et al.* 2008).

Penanganan infeksi *Escherichia coli* dilakukan dengan menggunakan antimikroba, namun demikian banyak ditemukan kasus resistensi terhadap antimikroba. Aslani *et al.* (2008) melaporkan bahwa 63% *Escherichia coli* resisten terhadap tetracyclin, 62% terhadap ampicilin, 56% terhadap streptomycin, 44,5% terhadap amoxicilin, 39,5% terhadap sulfamethazole, 37% terhadap cephalothin. Lebih lanjut Roy *et al* (2013) melaporkan bahwa 96,4% EPEC dan 72,7% ETEC yang diisolasi dari pasien diare, telah mengalami resistensi terhadap Ampicilin. Senada dengan hal tersebut Bolton *et al.* (2013) melaporkan EPEC sudah bersifat resisten terhadap antibiotik jenis nalidixic acid, tetracycline, aminoglycosides, quinolones, dan sulphonamides.

Peningkatan permasalahan resistensi bakteri mendorong meningkatnya penelitian tanaman sebagai alternatif antimikroba (Ushimaru, 2007). Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antimikroba adalah Lerak (*Sapindus rarak*). Buah tanaman lerak memiliki saponin yang tinggi sehingga dimanfaatkan masyarakat sebagai pencuci batik dan logam mulia. Selain saponin, lerak juga mengandung bahan antimikroba seperti: alkaloid, flavonoid, polifenol dan tanin. Penelitian yang dilakukan oleh Permatasari dkk (2013) menyimpulkan bahwa zat aktif seperti alkaloid, saponin, flavonoid, dan tannin memiliki aktivitas antibakteri, salah satunya pada *Escherichia coli*.

Berdasarkan uraian di atas diharapkan ekstrak etil asetat dan etanol buah lerak dapat menjadi alternatif antibakteri EPEC dan ETEC.

## METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental dengan desain *post test with control*. Penelitian ini dilakukan pada Januari – Desember 2014. Pembuatan ekstrak etil asetat dan etanol dilakukan di CV Chemical Mix Pratama bantul, Yogyakarta, sedangkan penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi AAK Nasional Surakarta. Sampel buah lerak didapatkan di

distributor “Sky” Agro Center cabang Solo dengan teknik kuota sampling.

Variasi konsentrasi yang digunakan pada daya hambat ekstrak etil asetat dan etanol terhadap EPEC dan ETEC adalah 3,125% ; 6,25% ; 12,5% ; 25% ; 50% ; 100%. Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal dilakukan dengan metode dilusi sesuai dengan CLSI (2012) Metode daya hambat yang digunakan adalah metode Kirby Bauer dengan Standart Mc Farland no 0,5

## Pembuatan Ekstrak

Ekstrak etil asetat dan etanol dibuat dengan metode maserasi selama 5 hari. Hasil maserasi kemudian disaring dan dievaporasi sampai didapatkan ekstrak kental. Etanol yang digunakan adalah etanol 70%.

## Uji Kadar Hambat Minimal (KHM)

Sebanyak 1 ml Nutrient Broth dimasukkan ke dalam 8 tabung reaksi (8 tabung untuk ekstrak etil asetat; 8 tabung untuk ekstrak etanol). Tabung 1 digunakan untuk kontrol positif; tabung 2 digunakan untuk kontrol negatif, tabung selanjutnya digunakan untuk masing-masing sampel ekstrak dari konsentrasi 3,125% sampai 100%. Kemudian pada masing masing tabung no 3 sampai 8 ditambahkan 1 ml suspensi bakteri sesuai dengan standart Mc Farland no 0,5 yang sudah diencerkan 100X. Tabung sampel no 3 - 8 diisi masing-masing variasi konsentrasi ekstrak dan tabung no 2 diisi masing-masing ekstrak lerak dengan konsentrasi 100%. Semua tabung diinkubasi pada 37°C selama 24 jam dan diamati kekeruhan pada setiap tabung.

## Uji Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Inokulasikan sebanyak 36 ose (diameter 1mm) dari masing-masing tabung ke media Nutrient Agar plate secara *streaking*. Inkubasi semua tabung pada 37°C selama 24 jam. Kemudian pertumbuhan koloni pada tiap plate diamati dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh (Cockerill *et al*, 2012).

## Uji Disk Diffusion

Diinokulasikan suspensi bakteri dengan kepadatan  $1,0 \times 10^8$  CFU/ml ke media Nutrient Agar plate

secara perataan. Kemudian dilakukan pemasangan disk blank yang sudah diisi dengan variasi konsentrasi tiap ekstrak. Diinkubasi semua tabung pada 37°C selama 24 jam.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

1. Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak

Ekstrak etil asetat dan etanol konsentrasi 100% dilakukan uji fitokimia dan didapatkan hasil pada Tabel 1.

2. Hasil Kadar Hambat Minimal Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak Terhadap EPEC dan ETEC.

Ekstrak etil asetat dan etanol dilakukan uji kadar hambat minimal dan didapatkan hasil pada Tabel 2.

Semua konsentrasi termasuk kontrol negatif yang hanya berisi ekstrak didapati kekeruhan (Tabel 2) sehingga kadar hambat minimal tidak dapat disimpulkan dengan melihat secara visual kekeruhan, selanjutnya dilakukan penggosresan dari masing-masing tabung ke media NA plate.

3. Kadar Bunuh Minimal Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak Terhadap EPEC dan ETEC

Kadar Bunuh Minimal merupakan konsentrasi terkecil yang mampu membunuh bakteri uji (Affandi dkk. 2009).

Kadar bunuh minimal ekstrak etil asetat terhadap EPEC sebesar 25% sedangkan kadar hambat ekstrak etanol sebesar 100%. Dengan demikian KBM etil asetat terhadap EPEC lebih rendah daripada ekstrak etanol (Gambar 1).

Kadar bunuh minimal ekstrak etil asetat terhadap EPEC sebesar 50% sedangkan kadar hambat ekstrak etanol sebesar 100%. Dengan demikian KBM etil asetat terhadap ETEC lebih rendah daripada ekstrak etanol (Gambar 2).

4. Disk Diffusion Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak terhadap EPEC dan ETEC

Uji disk diffusion dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat dan etanol lerak dengan metode difusi yaitu meletakkan disc/cakram yang telah berisi ekstrak ke atas media padat plate yang telah diinokulasikan bakteri uji.

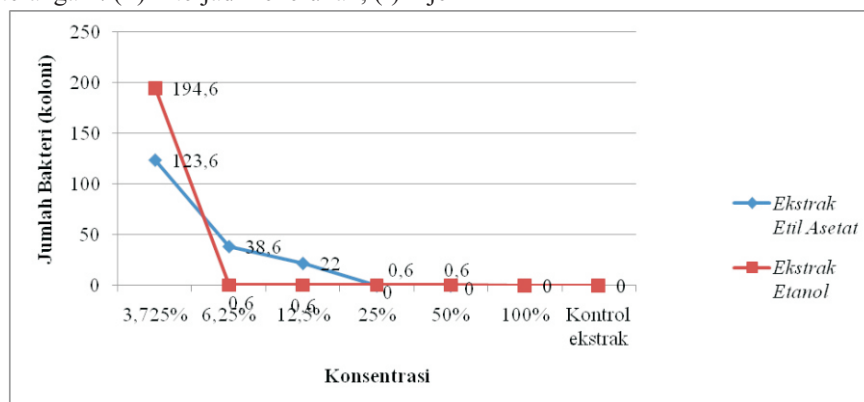
Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak

Bahan Aktif	Hasil	
	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Etanol
Flavonoid	+	+
Alkalojd	+	+
Saponin	+	+
Tannin	+	+
Polifenol	+	+

Tabel 2. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak terhadap *Enteropathogenic Escherichia coli* dan *Enterotoxigenic Escherichia coli*

Konsentrasi	Ekstrak Etil Asetat		Ekstrak Etanol	
	Hasil EPEC	Hasil ETEC	Hasil EPEC	Hasil ETEC
3,125%	+	+	+	+
6,25%	+	+	+	+
12,5%	+	+	+	+
25%	+	+	+	+
50%	+	+	+	+
100%	+	+	+	+
Kontrol positif	+	+	+	+
Kontrol negatif	+	+	+	+

Keterangan : (+) = terjadi kekeruhan, (-) = jernih



Gambar 1. Hasil KBM Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Lerak terhadap EPEC

Hasil diamati dengan pengukuran diameter zona bening (radikal) disekitar cakram uji.

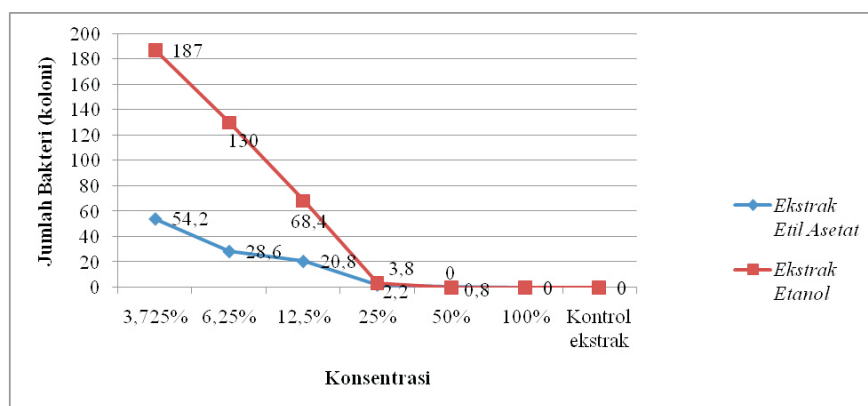
Daya hambat ekstrak etil asetat buah lerak terhadap EPEC lebih besar daripada ekstrak etanol. Hal ini terlihat dari Gambar 3 grafik zona hambat ekstrak etil asetat lebih tinggi daripada ekstrak etanol. Kontrol (+) yang dipakai pada penelitian ini adalah ciprofloxacin 5µg.

Daya hambat ekstrak etil asetat buah lerak terhadap ETEC lebih besar daripada ekstrak etanol.

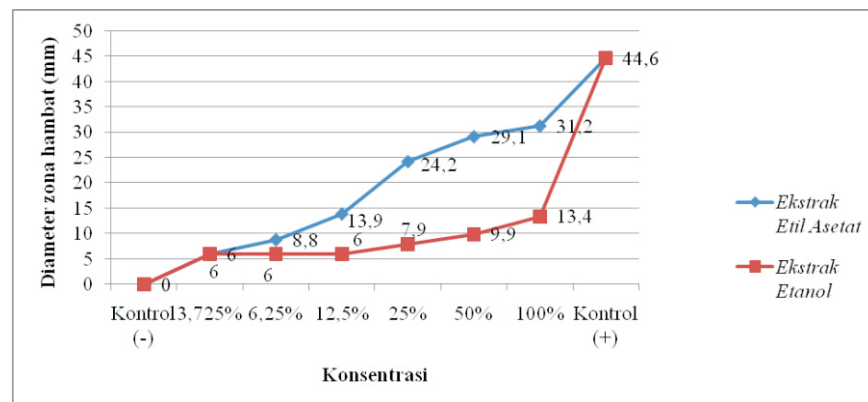
Hal ini terlihat dari Gambar 4 grafik zona hambat ekstrak etil asetat lebih tinggi daripada ekstrak etanol. Kontrol (+) yang dipakai pada penelitian ini adalah ciprofloxacin 5µg.

Perbedaan daya hambat ekstrak etil asetat dan etanol terhadap EPEC dan ETEC dapat dilihat pada Tabel 3.

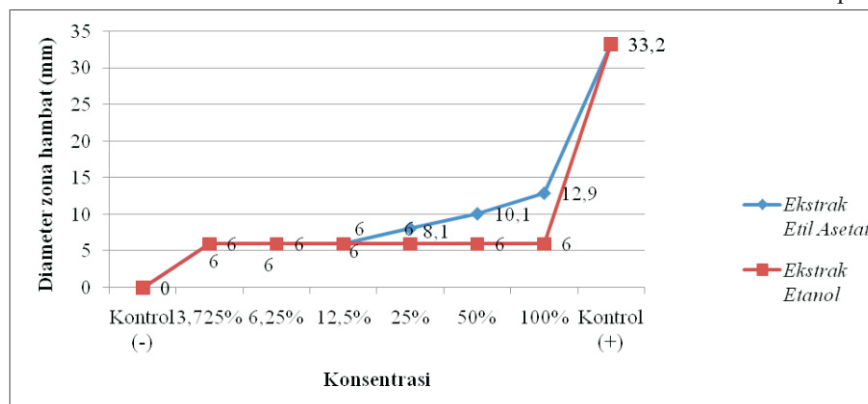
Perbedaan daya hambat ekstrak etil asetat dan etanol terhadap EPEC dan ETEC dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 2. Hasil KBM Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Lerak terhadap ETEC



Gambar 3. Hasil Disk Diffusion Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak Terhadap EPEC



Gambar 4. Hasil Disk Diffusion Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak Terhadap ETEC

Tabel 3. Hasil Uji ANOVA Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak terhadap EPEC dan ETEC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	604,605	3	201,535	6,092	0,004
Within Groups	661,602	20	33,080		
Total	1266,206	23			

Berdasarkan Tabel 3 diketahui bahwa kemampuan terdapat perbedaan kemampuan ekstrak dalam menghambat EPEC dan ETEC, perbedaan tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.

*Escherichia coli* merupakan gram negatif berbentuk batang, memiliki flagel peritrik, tidak membentuk spora serta bersifat fakultatif anaerob. EPEC merupakan penyebab diare cair pada balita dengan menggunakan gen *EPEC adherence faktor* (EAF) yang merubah konsentrasi kalsium intraseluler dan arsitektur sitoskeleton di bawah membran mikrovilus, sedangkan ETEC menyebabkan diare dengan cara memproduksi faktor kolonisasi dan enterotoksin (Jawetz et al, 2008).

Buah lerak mengandung senyawa antibakteri alkaloid, tanin, saponin, polifenol dan flavonoid (Udarno, 2009). Alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh. Flavonoid merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dinding sel bakteri (Paju dkk. 2013). Tannin mengkoagulasi protoplasma bakteri (Poeloengan dan Praptiwi, 2010). Polifenol bekerja sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel dan menghambat sintesis asam nukleat (Bachtiar dkk. 2012).

Daya hambat yang dihasilkan ekstrak etil asetat lebih besar daripada ekstrak etanol. Daya hambat ekstrak etil asetat terhadap EPEC berbeda signifikan dengan daya hambat ekstrak etanol (Tabel 4). Septiana (2012) menyatakan bahwa senyawa fenolik lebih mudah diekstrak oleh pelarut organik yang bersifat semipolar. Senyawa fenolik dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sianat, kumarin, tokoferol dan asam asam polifungsional. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Nurcahyanti dkk (2011) yang menyimpulkan ekstrak etil asetat memiliki kemampuan antibakteri paling baik terhadap

*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*.

Interaksi antibakteri dengan bakteri memerlukan keseimbangan hidrophilik dan lipofilik (HLB : *Hydrophilic Lipophilic Balance*) (Naufalin dkk, 2005). Polaritas senyawa merupakan sifat fisik antimikroba yang penting. Sifat hidrophilik diperlukan untuk menjamin senyawa larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel hidrofobik memerlukan sifat senyawa yang lipofilik (Nurcahyanti dkk, 2011).

Diameter zona hambat ekstrak etil asetat dan etanol lebih besar pada EPEC daripada ETEC dikarenakan perbedaan struktur sel keduanya. ETEC memiliki faktor kolonisasi yaitu protein fimbrial yang lebih tebal dan dikendalikan oleh CFA (*colonization factor antigen*), CS (*coli surface antigen*) atau PCF (*putative colonization factor*). Protein fimbrial ETEC lebih panjang dan tebal sehingga memudahkan untuk kolonisasi antar bakteri (Kaper, 2004). Penelitian ini sejalan dengan Alikhani et al (2013) yang menyatakan prosentase resistensi EPEC terhadap antibiotic ceftriaxone, cefexime, tetracycline, gentamycin, norfloxacin dan ciprofloxacin lebih rendah bila dibandingkan ETEC.

## KESIMPULAN

Nilai KHM ekstrak etil asetat dan etanol tidak dapat disimpulkan, nilai KBM ekstrak etil asetat terhadap EPEC adalah 25%, ekstrak etil asetat terhadap ETEC adalah 50% ekstrak etanol terhadap EPEC dan ETEC adalah 100% terdapat perbedaan daya hambat ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol terhadap EPEC dan ETEC. Ekstrak etil asetat memiliki daya hambat lebih besar daripada ekstrak etanol. Daya hambat ekstrak etil asetat dan etanol terhadap EPEC lebih besar daripada terhadap ETEC.

Tabel 4. Uji Lanjut Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat dan Etanol Buah Lerak terhadap EPEC dan ETEC

Daya Hambat Ekstrak terhadap Bakteri	Zona Radikal
Etil asetat terhadap EPEC	18,9 <sup>a</sup>
Etil asetat terhadap ETEC	8,2 <sup>b</sup>
Etanol terhadap EPEC	8,2 <sup>b</sup>
Etanol terhadap ETEC	6 <sup>b</sup>

Catatan : Huruf berbeda di belakang angka menunjukkan perbedaan signifikant menurut uji Scheffe dengan  $\alpha = 0,05$

**DAFTAR PUSTAKA**

- Affandi, A., Andrini, F., Lesmana. S.D. 2009. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% Terhadap *Staphylococcus Aureus* Resisten Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus Aureus* Sensitif Metisilin (MSSA). *Jurnal Ilmu Kesehatan*. 3 (1): 14 – 19.
- Alikhani, M.Y., S. H. Hashemi, M. M. Aslani, S. Farajnia. 2013. Prevalence and antibiotic resistance patterns of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from adolescents and adults in Hamedan, Western Iran. *Iran Journal of Microbiology*. 5 (1): 42 – 47.
- Asllani, M.M., Ahrabi, S.S., Alikhani, Y. M., Jafari, F., Zali, R.M., Mani. M. 2008. Molecular detection and antimicrobial resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolation from diarrheal cases. *Saudi Med Journal*. 29 (3): 388-392.
- Bachtiar, S.Y., Tjahjaningsih, W., Sianita, N., 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum* sp.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Journal of Marine and Coastal Science* 1(1): 53 – 60.
- Bolton, D.J., Ennis, C., McDowell, D., Occurrence. 2013. *Virulence Genes and Antibiotic Resistance of Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) from Twelve Bovine Farms in the North-East of Ireland*.
- Cockerill, F.R., Wikler, M.A., Alder, J., Dudley, M.N. 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition*. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Jawetz, E., Y. L. Melnick, dan E. A. Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Johannes, E. 2012. Pemanfaatan Senyawa Bioaktif Hasil Isolasi Hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureux sebagai Bahan Sanitizer pada Buah dan Sayuran Segar. *Disertasi*. Universitas Hasanuddin: Makassar.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L.T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews*. Department of Microbiology and Immunology, and the Department of Pediatrics, University of Maryland School of Medicine: Baltimore.
- Naufalin. R., Jenie, B.S.L., Kusnandar. F., Sudarwanto.M., Rukmini. H. 2005. Aktivitas Antibakteri Bunga Kecombang Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 2(15): 119 – 125.
- Nurcahyanti. A.D.R., Dewi. L., Timotius. K.H., 2011. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Polar dan Non Polar Biji Selasih (*Ocimum sanctum* Linn). *Jurnal Teknologi Pangan dan Industri*. 22 (1): 1 – 6.
- Paju, N., P. V. J. Yamlean, dan N. Kojong. 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* 2 (1): 51 – 61.
- Permatasari, G. A. A. A., Besung, I. N. K., Mahatmi, H. 2013. Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2 (2) : 162 – 169.
- Poeloengan, Andriani, Susan M. N., I. Komala dan M. Hasnita. 2007. Uji daya antibakteri ekstrak etanol kulit batang bungur (*Lagerstremia speciosa* pers) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007*: 776-782.
- Roy, S. Shamzzusaman, S.M. Mamun, K.Z. 2013. Antimicrobial Resistance Pattern Of Diarrheagenic *Escherichia Coli* Isolated From Acute Diarrhea Patients. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 2 (6): 43 – 46.
- Septiana, A.T, Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumpun Laut Coklat (*Sargassum duplicatum*) Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Jurnal Argointek* 6 (1): 22 – 28.
- Udarno, L. 2009. Lerak (*Sapindus rarak*) Tanaman Industri Pengganti Sabun. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* Volume 15, Nomor 2. Bogor : Badan Penelitian dan Pengembangan Perkebunan
- Ushimaru, P.I. M. T. Nogueira da Silva, L. C. Di Stasi, L. Barbosa, A.F. Junior. 2007. Antibacterial Activity Of Medicinal Plant Extracts. *Brazilian Journal of Microbiology*. Vol 38:717-719
- WHO. 2013. Acute Diarrhea in Adults and Children A Global Perspective. *Journal Clin Gastroenterol*. 47 (1). 12 – 20.