

EVALUASI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus pyogenes*

Komang Gede Yudha Prihantara¹, Anak Agung Gede Indraningrat^{2*}, Ni Wayan Widhidewi²

¹ Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa

² Bagian Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa

e-mail: indraningrat@warmadewa.ac.id

Penulis Korespondensi: Anak Agung Gede Indraningrat

ABSTRAK

Faringitis atau radang tenggorokan adalah suatu jenis penyakit yang tingkat prevalensinya dinilai cukup tinggi di Indonesia. Salah satu patogen penyebab faringitis adalah bakteri *Streptococcus pyogenes*. Selama ini upaya pengobatan faringitis lebih difokuskan pada terapi antibiotika. Untuk mencegah timbulnya resistensi *S. pyogenes* terhadap antibiotika, maka salah satu upaya mengatasi faringitis adalah dengan mengembangkan obat-obatan baru yang bersumber dari alam. Pegagan adalah satu dari beberapa kategori tanaman obat yang digunakan oleh masyarakat secara empiris untuk mengatasi penyakit infeksi karena kandungan senyawa aktifnya yang bersifat antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis daya hambat ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap pertumbuhan *S. pyogenes*. Penelitian yang dilakukan adalah jenis eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design*. Pembuatan ekstrak etanol pegagan dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 150 gram serbuk simplisia pegagan dimaserasi dengan etanol 75% selama 24 jam dengan kecepatan 175 rpm dan didapatkan ekstrak sebanyak 22,48 gram. Skrining antibakteri menggunakan media Mueller Hinton Agar dengan metode Kirby-Bauer pada lima konsentrasi berbeda yaitu 0%, 25%, 50%, 75%, 100%. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotika ampicillin. Hasil penelitian ini menunjukkan konsentrasi hambat minimal yaitu 50% dengan diameter zona hambat $6,13 \pm 1,02$ mm. Sedangkan, rata-rata diameter daya hambat ekstrak tertinggi terhadap *S. pyogenes* diperoleh pada konsentrasi 100% sebesar $11,39 \pm 0,25$ mm. Analisis Kruskal-Wallis menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang mengindikasikan daun pegagan mampu menghambat *S. pyogenes*. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri dari daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap *S. pyogenes*.

Kata kunci: *Centella asiatica*, *Streptococcus pyogenes*, antibakteri, faringitis

ABSTRACT

Pharyngitis or commonly known as sore throat is a disease which has a high prevalence in Indonesia. Pharyngitis caused by bacteria *Streptococcus pyogenes* infections. Generally, bacterial infections have been treated mainly using antibiotics drugs. To prevent the emergence of *S. pyogenes* resistance against antibiotics, one of the efforts to overcome pharyngitis is to develop new drug(s) from natural resources. *Centella asiatica* is a type of medical plant that is commonly used by people empirically to overcome infection disease due to its diverse secondary metabolites. The aim of this research was to analyze antibacterial activity of *C. asiatica* leaves crude extract against *S. pyogenes*. This experiment was performed based on post-test only control group designed. Maceration was performed by mixing 150 grams of simplicia *C. asiatica* powder with 750 mL 75% ethanol solvent for 24 hours and at 175 rpm which resulted in total crude extract of 22.48 gram. Antibacterial screening against *S. pyogenes* was performed by Kirby-Bauer method using Mueller Hinton Agar (MHA) by testing five different concentrations namely 0%, 25%, 50%, 75% and 100%. In addition, ampicillin was used as a positive control. The result showed that the minimum inhibition concentration was observed at concentration 50% with diameter zone of inhibition of 6.13 ± 1.02 mm. In addition, the highest diameter zone of inhibition against *S. pyogenes* was 11.39 ± 0.25 mm at a concentration of 100%. Statistical analysis based on Kruskal-Wallis different test showed that there was a no significant difference between group control and treatment group.

Keywords: *Centella asiatica*, *Streptococcus pyogenes*, anti-bacterial, faringitis

PENDAHULUAN

Daerah hutan tropika Indonesia mempunyai keberagaman hayati paling tinggi ke-2 di dunia dengan estimasi sejumlah 30.000 jenis flora dan 940 jenis diantaranya mempunyai khasiat sebagai obat dan telah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional secara turun-temurun di Indonesia¹. Masyarakat menggunakan tanaman obat karena secara umum tidak terdapat bahan kimia sintesis didalamnya sehingga relatif aman untuk digunakan. Sejumlah penelitian juga melaporkan potensi senyawa aktif pada tanaman obat misalnya sebagai senyawa antibakteri maupun antioksidan^{2,3}. Selain itu, tanaman obat menawarkan keunggulan karena lebih mudah dijangkau masyarakat, baik segi harga maupun ketersediaannya. Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat⁴.

Tanaman pegagan adalah jenis kosmopolit yang yang kemampuan menyebarnya luas di daerah tropis atau subtropis. Pegagan diyakini mampu berperan sebagai penyembuh berbagai jenis penyakit karena mempunyai beragam komponen bioaktif, salah satunya memiliki manfaat sebagai antibakteri. Komponen bioaktif yang memiliki sifat antibakteri adalah flavanoid, tanin dan saponin⁵. Pegagan diketahui oleh masyarakat berkhasiat untuk peluruh kencing (diuretika), melancarkan peredaran darah, menghentikan pendarahan (hemostatika), penurunan panas (antipiretika), meningkatkan saraf memori, antibakteri, antispasme, tonik, antiinflamasi, insektisida, hipotensi, antialergi dan stimulan⁶.

Bakteri *Streptococcus pyogenes* merupakan salah satu jenis bakteri patogen pada manusia dan merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus berdiameter 0,6-1,0 μm ⁷. Bakteri *S. pyogenes* memiliki berbagai protein pada dinding sel dan juga berbagai faktor virulensi lain yang dapat menyebabkan berbagai masalah klinis, seperti faringitis dan juga dapat menimbulkan infeksi invasif parah⁸. Keberadaan *S. pyogenes* di saluran pernapasan berkisar antara 5-15% pada individu normal⁹.

Faringitis atau kerap kali dikenal sebagai radang tenggorokan adalah satu dari jenis penyakit yang tingkat penyebarannya cukup tinggi di Indonesia dan hampir setiap individu pernah mengalaminya. Kasus faringitis akut yang terjadi pada anak diestimasikan sebesar 15-37% dan pada orang dewasa mencapai 5-10%⁹. Selain faringitis atau radang tenggorokan, *S. pyogenes* bisa menyebabkan beberapa penyakit lainnya seperti erysipelas yang memiliki ciri khas dengan adanya edema yang luas dan juga infeksi yang menyebar di bagian tepi dengan cepat, selulitis yang dapat menyebar pada kulit dan jaringan subkutaneus dengan cepat, dan demam rematik yang berupa perkembangan lanjutan dari infeksi *Streptococcus hemolitik* karena dapat mengakibatkan kerusakan pada katup dan otot jantung¹⁰.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Azzahra and Hayati¹¹, ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 40%, 60%, dan 80%. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang dilakukan Widiastuti et al¹². tentang potensi antibakteri dan antikandida ekstrak etanol daun pegagan diperoleh hasil bahwasanya terdapat aktivitas

penghambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100%.

Sejumlah penelitian di atas sudah menguraikan potensi antibakteri dari daun pegagan, tetapi penelitian yang mengkaji aktivitas antibakteri daun pegagan terhadap *S. pyogenes* belum pernah diteliti, sehingga penelitian ini bertujuan untuk menganalisis daya hambat ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan *S. pyogenes*.

BAHAN DAN METODE

Desain Penelitian dan Kelaikan Etik

Penelitian ini merupakan penelitian *quasi experiment* dengan menggunakan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Persetujuan etik telah diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa (No: 14/Unwar/FKIK/EC-KEPK/II/2023) dan ijin melaksanakan penelitian dari Lembaga Penelitian Universitas Warmadewa (No. 156/UNWAR/LEMLIT/PD-13/2023).

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa yang dilaksanakan pada tanggal 6 September – 24 November 2022. Adapun kegiatan yang dilakukan diantaranya pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, pembuatan larutan uji, pembuatan media, uji aktivitas antibakteri.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, penyaring buncher, pisau, vacuum gas, ayakan 40 mesh, neraca analitik (adam), botol timbangan, batang pengaduk, gelas ukur, spatula, *vacum rotary evaporator*, cawan petri, kertas saring whatman, *paper disk blank*, lidi kapas steril, mikropipet, pinset, lampu Bunsen, timer, inkubator, jangka sorong, tabung *glass*, ose, dan *waterbath*.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pegagan, etanol 75%, *Mueller Hinton Blood Agar*, NaCl 0,9%, *Streptococcus pyogenes*, ekstrak daun pegagan 25%, 50%, 75%, 100%, ampicillin, *handscoon*, masker.

Prosedur Kerja

a. Pengambilan sampel daun pegagan

Pegagan yang digunakan diperoleh dari Bokashi Farm (Pak Oles) di Jalan Waribang no. 27, Kesiman, Denpasar. Tanaman pegagan yang digunakan dipastikan berusia panen 3-4 bulan, terbebas dari serangga, kotoran hewan, tidak berisi jamur, atau tanda-tanda pengotor lain, tidak terkandung bahan lain yang beracun dan berbahaya. Cara pemanenan adalah dengan mengambil daun pegagan.

b. Pembuatan Simplisia

Daun pegagan yang telah dikumpulkan sebanyak 5 kg, dicuci bersih pada air yang mengalir, ditiriskan, ditimbang, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C. Dikatakan sudah kering apabila daun diremas akan mudah hancur. Selanjutnya dihaluskan dengan diblender sehingga didapatkan serbuk simplisia. Timbang kembali lalu disimpan pada kantong plastik dan diikat kuat.

c. Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi etanol pegagan dilakukan dengan metode perendaman (maserasi). Serbuk pegagan sebanyak 50-gram (1 bagian) ditambahkan ke dalam tabung Erlenmeyer, lalu tambahkan 500 ml (10 bagian) pelarut etanol 75%, lalu rendam bahan selama 24 jam dengan kecepatan 175 rpm. Hasil perendaman pertama yang diperoleh disaring menggunakan corong Buchner yang ditutup dengan kertas saring menggunakan pompa vakum. Kemudian dilakukan perendaman ulang dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Seluruh hasil perendaman kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 78°C untuk menguapkan pelarut yang terkandung dalam ekstrak. Penguapan dilakukan menggunakan penangas air pada suhu 50°C. Ekstrak yang dihasilkan berupa ekstrak kental dan akan ditimbang pada neraca analitik.

d. Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%. Larutan 25% berarti larutan tersebut terdiri dari 25 mL ekstrak daun pegagan dan 75 mL etanol. Larutan 50% terdiri dari 50 mL ekstrak daun pegagan dan 50 mL etanol. Larutan 75% terdiri dari 75 mL ekstrak daun pegagan dan 25 mL etanol serta larutan 100% terdiri dari 100 mL ekstrak daun pegagan.

Tabel 1. Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Bakteri *S. pyogenes*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)					
	P1	P2	P3	P4	K+	K-
1	0	5,41	6,40	11,57	39,65	0
2	0	6,85	6,94	11,22	39,65	0
Rerata ± SD	0	6,13 ± 1,02	6,67 ± 0,38	11,39 ± 0,25	39,65 ± 0	0

Keterangan :

- P1: Perlakuan dengan ekstrak daun pegagan dengan konsentrasi 25%
- P2: Perlakuan dengan ekstrak daun pegagan dengan konsentrasi 50%
- P3: Perlakuan dengan ekstrak daun pegagan dengan konsentrasi 75%
- P4: Perlakuan dengan ekstrak daun pegagan dengan konsentrasi 100%
- K+: Perlakuan dengan *Amphicillin* pada kontrol positif
- K-: Perlakuan dengan etanol 75% pada kontrol negatif

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa rata-rata diameter zona hambat tertinggi ada pada kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang diberi *Amphicillin* sebesar 39,65±0 mm, sedangkan rata-rata diameter zona hambat

e. Uji Aktivitas Antibakteri

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan dengan jumlah pengulangan yang dipakai adalah 2, yang artinya pada kelompok I sampai VI dilakukan masing-masing 2 kali pengulangan dimana untuk satu cawan petri dengan Mueller Hinton Blood Agar nantinya akan dibagi menjadi 4 bagian yang terdiri dari kelompok perlakuan dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dan ditambah satu cawan petri dengan Mueller Hinton Blood Agar yang dibagi menjadi 2 bagian yang terdiri dari kontrol positif dan kontrol negatif, sehingga dibutuhkan total 4 cawan petri dengan media Mueller Hinton Blood Agar.

Analisis Data

Data penelitian berupa diameter zona hambat ekstrak daun pegagan terhadap *Streptococcus pyogenes* dianalisis menggunakan aplikasi SPSS versi 20 dan dilakukan uji one way ANOVA jika data terdistribusi normal. Namun jika distribusi data tidak normal, maka akan digunakan uji non-parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis.

HASIL

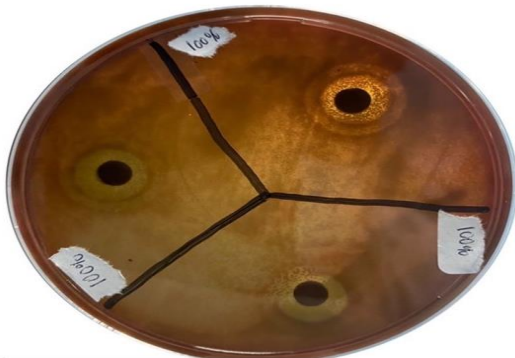
Hasil Ekstraksi Daun Pegagan

Hasil uji ekstrak pegagan terhadap *S. pyogenes* disajikan pada Tabel 1.

terendah ada pada kelompok control negatif yaitu sebesar 0,00±0 mm.

Sedangkan pada kelompok perlakuan diameter tertinggi ada pada kelompok P4 atau kelompok ekstrak daun pegagan

dengan konsentrasi 100% yaitu sebesar $11,39 \pm 0,25$ mm (Gambar 1).



P1, P2 (100%)

Gambar 1 Pengamatan Diameter Zona Hambat terhadap *S. pyogenes* pada Perlakuan dengan konsentrasi 100%. P1 = Pengulangan 1, P2 = Pengulangan 2.

Uji Normalitas

Hasil pengujian normalitas yang diperoleh disajikan pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	
	DZH
N	12
Kolmogorov-Smirnov Z	1.064
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.207
a. Test distribution is Normal.	

Pada penelitian ini data yang diperoleh dari hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* yaitu data pengukuran diameter zona hambat mempunyai nilai $p = 0,207$ dengan nilai distribusi normal $p > 0,05$. Hal ini berarti data pengukuran diameter zona hambat mempunyai distribusi normal.

Uji Homogenitas

Hasil pengujian homogenitas yang diperoleh disajikan pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Uji Homogenitas

Uji Homogenitas dari variance			
DZH			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
0	5	0	0

Berdasarkan Tabel 3 di atas, hasil uji *Levene* untuk diameter zona hambat tidak bisa mengeluarkan nilai karena data pengujian menunjukkan data yang sama untuk satu kelompok. Sehingga pengujian ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok perlakuan digunakan uji *Kruskal-Wallis*, karena data tidak terdistribusi normal.

Uji Beda Kruskal Wallis

Hasil pengujian homogenitas yang diperoleh disajikan pada Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Uji Beda Kruskal Wallis Antar Kelompok

Variabel Penelitian	P	Keterangan
Diameter Zona Hambat	0,059	Tidak ada perbedaan

Berdasarkan hasil di atas, signifikansi *p-value* adalah 0,059 ($p > 0,05$) sehingga H_0 diterima, maka dapat disimpulkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok.

PEMBAHASAN

Menurut Davis and Stout¹³, indikator kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut: zona hambat 5 mm atau kurang tergolong lemah, zona hambat 5-10 mm tergolong sedang, zona hambat 10-20 mm tergolong kuat, zona hambat 20 mm atau lebih dikatakan sangat kuat. Berdasarkan kategori tersebut, maka daya hambat yang diperoleh oleh daun pegagan (*Centella asiatica*) pada konsentrasi 25% dikategorikan lemah karena menghasilkan zona hambat kurang dari 5 mm, pada konsentrasi 50% dan 75% dikategorikan sedang karena menghasilkan zona hambat 5-10 mm, pada konsentrasi 100% dikategorikan kuat karena menghasilkan zona hambat diatas 10 mm.

Hasil di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka menghasilkan daya hambat yang semakin besar, yaitu pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) ekstrak daun pegagan terhadap *S. pyogenes* adalah 50% dengan rata-rata daya hambat 5-10 mm dan tergolong kategori sedang. Definisi KHM adalah konsentrasi minimal zat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam dan tidak terdapat koloni bakteri yang dilihat saat mengamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% ekstrak pegagan jauh lebih kecil dibandingkan kontrol positif dengan menggunakan ampicilin yang

menghasilkan zona hambat sangat kuat. Hal ini dikarenakan ampicilin merupakan antibiotik spektrum luas golongan penisilin yang bertindak dengan mengikat satu atau lebih ikatan penisilin-protein, menyebabkan penghambatan langkah terakhir sintesis transpeptidase peptidoglikan di dinding sel yang terhambat dan sel bakteri yang pecah¹⁴. Zat antibakteri yang terkandung pada ekstrak *C. asiatica* adalah flavonoid, terpenoid, saponin, steroid, dan tannin¹¹.

Ekstrak *C. asiatica* menunjukkan kemampuan sebagai antibakteri yang semakin meningkat pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Dengan melihat aktivitas bakteri, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula potensi penghambatan pada masing-masing kelompok. Kemampuan menghambat bakteri terhadap mikroorganisme tergantung pada konsentrasi dan jenis antibakteri¹⁵. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun pegagan, semakin tinggi daya hambat dan daya bunuhnya terhadap bakteri *S. pyogenes* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sekitar cakram dan penurunan pertumbuhan jumlah koloni *S. pyogenes* pada permukaan media *blood agar*¹⁶.

Salah satu faktor yang mempengaruhi ada atau tidaknya efek penghambatan yang disebabkan oleh zat antibakteri yang terdapat pada ekstrak pegagan adalah bakteri yang digunakan dalam penelitian. Perbedaan strain bakteri menyebabkan perbedaan enzim atau zat lain yang dihasilkan oleh bakteri yang memiliki efek berbeda pada zat antibakteri yang ada di pegagan. Perbedaan strain disebabkan oleh perbedaan antigen¹⁷. Misalnya pada penelitian yang dilakukan oleh Ramadhan et al¹⁷ tidak ditemukan adanya daya hambat ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan kuman *Vibrio cholera* secara *in vitro* yang bisa dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya jenis bakteri yang digunakan.

Penelitian yang dilakukan oleh Azzahra dan Hayati¹¹ menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *C. asiatica* terhadap *Streptococcus mutans* dan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan efektif menghambat pertumbuhan *S. mutans* pada konsentrasi yang berbeda derajat 10%, 20%, 40%, 60%, 80%. Rerata diameter terbesar zona hambat pada konsentrasi 80% yaitu 19,5 mm, sedangkan rerata diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 10% yaitu 10,3 mm. Penelitian dilakukan oleh Siregar et al¹⁹ menunjukkan bahwa *C. asiatica* efektif sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%. Rata-rata zona hambat tertinggi ada pada konsentrasi 75% yaitu 12,4 mm yang tergolong kuat, sedangkan rata-rata diameter zona hambat paling rendah pada konsentrasi 25% yaitu 7,7 mm yang tergolong sedang. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Arum et al²⁰ yang melaporkan bahwa penghambatan terhadap bakteri lebih besar dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak karena dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka semakin banyak bahan aktif antibakteri.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*) menghasilkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. pyogenes*.
2. Konsentrasi hambat minimal ekstrak daun pegagan dalam menghambat pertumbuhan *S. pyogenes* terlihat pada konsentrasi 50% dengan besaran diameter zona hambat sebesar 6,13±1,02 mm.

Saran

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat menguji aktivitas antibakteri daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap pertumbuhan jenis bakteri Gram positif dan negatif khususnya yang bersifat patogen dan memiliki resistensi antimikroba. Studi lanjutan juga sebaiknya menguji efek toksisitas secara *in vitro* dan *in vivo* pada hewan percobaan sebelum melanjutkan pada uji klinis pada manusia. Selain itu penelitian lanjutan diperlukan untuk meneliti kandungan senyawa aktif pada pegagan secara kuantitatif misalnya dengan cara menggunakan metode GC-MS atau LC-MS.

Konflik Kepentingan dan Pendanaan Penelitian

Penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian ini. Pendanaan penelitian dilakukan dengan pembiayaan mandiri oleh penulis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yusran Y, Ilyas A, Saleh HA. Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Pegagan (*Centella Asiatica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Al-Kimia. 2016;4(1):54–61.
2. Kirtanayasa IGYA, Indraningrat AAG, Candra IP. Phytochemical, Antibacterial and Antioxidant Activities of *Schefflera elliptica* Leaves. Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry. 2023;12(1):329–34.
3. Wijaya MD, Indraningrat AAG. Antibacterial Activity of Mangrove Root Extracts from Ngurah Rai Mangrove Forest, Denpasar-Bali. Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry. 2021;10(2):117–21.
4. Paramitha Y. Efek Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. Jurnal Ilmu Kedokteran Wijaya Kusuma. 2015;9(1):21.
5. Agfadila T, Sandhi PA, Puspawati NN. Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739. J ITEPA. 2017;6(2):21–9.
6. Murdiyansah S, Citra Rasmi DA, Mertha IG. *Centella asiatica* Activities towards *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Growth. J Biol Trop. 2020;20(3):499–506.

7. Murni NW. Efek Antimikroba Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Malang. 2019.
8. Sari EP. Aktivitas Antibakteri Madu Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Jurnal Insa Cendekia. 2020;7(1):28–33.
9. Syafriana V, Hamida F, Damayanti R. Aktivitas antibakteri ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes*. 2020;40–4. Available from: <https://ejournal.istn.ac.id/index.php/saintechfarma/article/view/523>
10. Agustin D. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Bunga Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap Zona Hambat Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* Sebagai Sumber Belajar Biologi. 2018;12–36.
11. Azzahra F, Hayati M. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. B-Dent, Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah. 2019;5(1):9–19.
12. Widiastuti R, Nurhaeni F, Marfuah DL, Wibowo GS. Potensi Antibakteri dan Anticandida Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.). 2016;4:23–30.
13. Davis WW, Stout TR. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. II. Novel Procedure Offering Improved Accuracy. Appl Microbiology. 1971;22(4):666–70.
14. Septiani DA, Prabowo WC, Rusli R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Lintut (*Hemigraphis* sp) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Salmonella typhi*. 2021;13(3):62–7.
15. Sandy M, Wardani TS, Septiarini AD. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi n-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Media Farm Indonesia. 2021;16(2):1–10.
16. Azmi DA, Nurlailah N, Dwiyantri RD. Ethanol Extract of *Centella Asiatica* (L.) Urban Leaves Effectively Inhibit *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* by In Vitro Test. Trop Heal Med Res. 2020;2(2):69–76.
17. Ramadhan NS, Rasyid R, Syamsir E. Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) yang Diambil di Batusangkar terhadap Pertumbuhan Kuman *Vibrio cholerae* secara In Vitro. Jurnal Kesehatan Andalas. 2015;4(1):202–6.
18. Siregar A, Sari Mutia M, Napiah A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* 2022;6(1):21–8. Available from: <https://ejournal.unida.gontor.ac.id/index.php/pharmasip/ha/issue/archive>
19. Sirear AF. Efektifitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan Konsentrasi 1%, 2,5% dan 5% sebagai Obat Kumur terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* secara In Vitro. Skripsi. 2020;
20. Arm Y, Supartono, Sudarmin. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Jurnal MIPA Unnes. 2013;35(2):167–74.

