

**KEMAMPUAN DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban) TERHADAP PERTUMBUHAN
Escherichia coli ATCC 8739**

Tanzila Agfadila¹⁾, Putu Ari Sandhi W²⁾, Ni Nyoman Puspawati²⁾

¹⁾Mahasiswa PS Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

²⁾Dosen PS Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

E-mail: tanzila_aljaidy@yahoo.com

ABSTRACT

*This study aims to determine the inhibition of leaf extract of pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) on the growth of *Escherichia coli* ATCC 8739 and to know its best contact time which can inhibit the growth of *Escherichia coli* ATCC 8739 bacteria. The experimental metode was used in this research with consisting of 4 level in 0 hours, 6 hours, 12 hours and 24 hours. Data of research result presented in table and picture form. The data obtained were analyzed using descriptive analysis. The results showed that pegagan leaf extract contain flavonoids, tannins and saponins. Based on quantitative analysis pegagan leaf extract obtained flavonoids of 0.09% and tannin of 0.10%. Leaf extract of pegagan can inhibit the growth of *Escherichia coli* ATCC 8739 but less than one log cycle and contact time of pegagan extract with *Escherichia coli* most precisely is 12 hours with decrease of bacteria equal to 1.3×10^1 and 40.62% of bacteria test.*

Keywords: *pegagan leaf extract, Escherichia coli* ATCC 8739, inhibition, antibacterial compounds

PENDAHULUAN

Pegagan merupakan tanaman yang sering ditemui di tempat-tempat terbuka dan lembab seperti tegalan, area persawahan, bahkan tepi tembok atau pagar (Winarto dan Surbakti, 2003). Pegagan dipercaya dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit karena mempunyai komponen bioaktif yang berguna bagi tubuh. Komponen bioaktif yang terdapat dalam pegagan mempunyai fungsi bagi kesehatan salah satunya sebagai antibakteri. Komponen bioaktif pegagan yang memiliki sifat antibakteri adalah flavonoid, tanin dan saponin (James, 2009). Penghambatan ekstrak pegagan terhadap bakteri telah dilakukan oleh Dash *et al* (2011) yang menunjukkan bahwa ekstrak pegagan dapat menghambat bakteri *Proteus vulgaris*,

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

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif dan secara normal berada di saluran pencernaan bagian bawah dan dapat berubah menjadi patogen jika perkembangan bakteri di dalam tubuh melebihi batas normal. Dampak yang ditimbulkan pada penderita yang tercemar *Escherichia coli* adalah menurunnya berat badan dan kondisi tubuh, pertumbuhan terhambat, dan jika tidak segera ditangani dapat menimbulkan kematian (Besung 2010). Pemberian antibakteri merupakan salah satu cara untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Menurut Agustrina (2011) efektifitas senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi

oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi zat antibakteri, jenis, jumlah, umur dan keadaan bakteri, sifat-sifat kimia dan fisik makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen di dalamnya, suhu, serta waktu kontak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak daun pegagan dan waktu kontak terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Kegiatan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Laboratorium Analisis Pangan Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2016 sampai dengan bulan April 2017.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, evaporator, spektrofotometer *UV Vis*, batang bengkok, timbangan analitik, mikropipet, *freezer*, inkubator (Mammert), tip, *laminar flow cabinet* (Kojair), bunsen, *shaker*, kertas label, *vortex*, korek api, mikroskop, cawan petri (Pyrex), jarum ose, tabung reaksi (Pyrex), gelas beker (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), dan tabung *effendorf*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pegagan yang diperoleh dari Desa Blahbatuh, Kabupaten

Gianyar, isolat bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739 diperoleh di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, aquades steril, etanol 96%, AlCl_3 2% (Merck), H_2SO_4 (Merck), EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) (Merck), LB (*Lactose Broth*) (Merck), NA (*Nutrient Agar*) (Oxoid), NB (*Natrium Broth*) (Oxoid), PCA (*Plate Count Agar*) (Oxoid), *aluminium foil* (Klin Park), gliserol 30%, alkohol 95% (PT.AFI Farma), *tissue* (Passeo), spiritus dan plastik High Density Polyethylene (Cap Pestul).

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan metode ekperimental dengan perlakuan waktu kontak ekstrak daun pegagan dengan *Escherichia coli* yang terdiri dari 4 level yaitu 0 jam, 6 jam, 12 jam dan 24 jam. Penelitian dilakukan dengan tiga kali ulangan. Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan gambar, yang dianalisis menggunakan analisis deskriptif.

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan

Pembuatan ekstrak daun pegagan dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 50 g daun pegagan segar dirajang halus kemudian dilarutkan ke dalam air sebanyak 500 ml dan di *shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 200 rpm. Ekstrak disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya filtrat dievaporasi pada suhu 40°C dengan tekanan 100 MBar sehingga didapatkan ekstrak

daun pegagan. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan sebelum digunakan (Selawa *et al.*, 2013).

Uji Fitokimia

1. Uji Kualitatif Fitokimia

Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara menimbang 0,5 g ekstrak daun pegagan kemudian ditambahkan dengan etanol 96% sebanyak 5 ml kemudian disaring dan dipanaskan \pm 3 menit. Filtrat ditambahkan dengan 5 tetes H_2SO_4 . Terbentuknya warna merah atau kuning karena penambahan H_2SO_4 menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Harborne, 1987).

Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan cara menimbang 0,5 g ekstrak daun pegagan kemudian ditambahkan air secukupnya dan dipanaskan selama \pm 3 menit. Larutan tersebut didinginkan kemudian dikocok selama 10 menit dan bila menimbulkan busa menunjukkan adanya saponin (Harborne, 1987).

Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun pegagan diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 ml kemudian disaring. Filtrat yang didapat kemudian ditambahkan beberapa tetes $FeCl_3$ 1%. Adanya senyawa tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, biru atau ungu (Harborne, 1987).

2. Uji Kuantitatif Fitokimia Pengujiian Flavonoid

Penentuan kadar flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode kalorimetri alumunium klorida (Desmiaty *et al.*, 2009) yaitu sebagai berikut: Pembuatan ekstrak etanol daun pegagan dengan cara menimbang 1,0 g ekstrak kental daun pegagan, dilarutkan dalam 2 ml etanol absolut kemudian disaring, filtrat yang diperoleh diletakkan di labu takar 5 ml dan diberi etanol absolut sampai dengan 5 ml. Pembuatan standar kuersetin dalam etanol dengan konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80, 100 μ l. Masing-masing larutan ditambahkan 500 μ l alumunium klorida 2% dan etanol absolut (hingga jumlah konsentrasinya menjadi 500 μ l). Penentuan jumlah flavonoid. Filtrat ekstrak kental yang telah diencerkan diambil sebanyak 100 μ l. Ditambahkan 500 μ l alumunium klorida 2% dan etanol absolut 400 μ l. Diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit. Filtrat diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm kemudian dihitung kadar flavonoid yang terdapat dalam ekstrak.

Kadar Tanin

Penentuan total tanin dilakukan dengan metode yang dilakukan oleh (Rajan *et al.*, 2011) yaitu sebagai berikut: Pembuatan ekstrak daun pegagan dengan

cara menimbang 1,0 g ekstrak daun pegagan, dilarutkan dalam 2 ml air panas kemudian disaring, filtrat yang diperoleh diletakkan di labu takar 5 ml dan diberi air panas sampai dengan 5 ml. Selanjutnya diambil ekstrak sebanyak 100 µl kemudian ditambahkan 100 µl follin-denis dan 800 µl Na₂CO₃. Pembuatan standar tanin yaitu . Dibuat serangkaian standar tanin yakni asam tanat dengan konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80, 100 µl. Masing-masing larutan ditambahkan air panas (hingga jumlah konsentrasinya menjadi 100 µl). Ditambahkan 100 µl follin-denis dan 800 µl Na₂CO₃ pada masing-masing konsentrasi. Diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 715 nm. Dihitung kadar tannin yang terdapat dalam ekstrak.

Uji Konfirmasi *Escherichia coli* ATCC 8739

Isolat bakteri yang sudah disegarkan dibiakkan pada media EMBA dengan cara digoreskan agar diperoleh koloni tunggal dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Pertumbuhan koloni bakteri ditandai dengan munculnya warna hijau metalik pada media EMBA. Disiapkan 5 ml LB kemudian dimasukkan satu koloni tunggal bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739 dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Kultur stok gliserol dibuat dengan menambahkan 1 ml kultur isolat pada 1 ml gliserol 30%, kemudian disimpan pada freezer dengan suhu -70° C, sedangkan

untuk kultur kerja dibuat dengan cara menginokulasi isolat dari LB yang sebelumnya telah diinkubasi ke media NA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam kemudian kultur kerja disimpan pada suhu 4°C (Juniarthati, 2011).

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara isolat bakteri yang telah disegarkan diratakan pada kaca objek yang sudah dibersihkan dan difiksasi ± 20 cm diatas api bunsen. Preparat ditetesi dengan pewarna kristal violet yang didiamkan selama kurang lebih 1 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dengan posisi preparat dimiringkan dan larutan lugol dan didiamkan selama 2 menit dan kembali dibilas dan dikeringkan. Preparat kembali ditetesi dengan etanol 95% dan didiamkan selama ± 10 – 20 detik dan kembali dibilas dan dikeringkan. Terakhir preparat ditetesi dengan safranin dan didiamkan 10 – 20 detik, kemudian dibilas dan dikeringkan seperti hal sebelumnya, lalu preparat diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x (Juniarthati, 2011).

Pengujian Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739 dengan Metode Kontak

Kultur bakteri disegarkan ke dalam media LB sebanyak 1 ose kemudian diinkubasi selama 24 jam. LB yang telah ditumbuhi *Escherichia coli* diencerkan dalam NB dengan perbandingan 1 ml kultur bakteri dan 9 ml NB kemudian diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya

dipipet 0,1 ml kultur bakteri ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 ml ekstrak kental daun pegagan. Masing – masing tabung reaksi diinkubasi dengan perlakuan waktu kontak 0, 6, 12, dan 24 jam. Setelah waktu kontak tercapai, ekstrak diencerkan hingga 10^{-7} kemudian sebanyak 0,1 ml ditanam dalam media NA dengan metode sebar kemudian diinkubasi selama 48 jam. Analisis hasil dilakukan dengan

menghitung total mikroba yang tumbuh (Parhusip *et al.*, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Senyawa Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan

Pengujian senyawa fitokimia ekstrak daun pegagan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil pengujian senyawa fitokimia ekstrak daun pegagan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengujian Senyawa Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan

| Parameter yang diuji | Hasil | |
|----------------------|------------|-------------|
| | Kualitatif | Kuantitatif |
| Flavonoid | + | 0,09 % |
| Tanin | + | 0,10 % |
| Saponin* | + | - |

Keterangan : * hanya dilakukan pengujian secara kualitatif saja

Berdasarkan Tabel 1, ekstrak daun pegagan positif mengandung flavonoid dengan kadar flavonoid sebesar 0,09 %. Adanya senyawa flavonoid pada ekstrak daun pegagan ditandai dengan terjadinya perubahan warna ekstrak menjadi kuning karena penambahan H_2SO_4 . Menurut Markham (1998) flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol dimana apabila senyawa ini direaksikan dengan asam maka akan terbentuk warna kuning yang disebabkan oleh terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik. Total flavonoid yang diperoleh pada penelitian ini berbeda jumlahnya dengan penelitian yang dilakukan oleh oleh Biradar *et al.*, (2013) dimana pada penelitian tersebut menghasilkan flavonoid sebesar 3,0 % dari ekstrak daun pegagan dengan pelarut

etanol. Perbedaan hasil jumlah kandungan zat ini juga dapat terjadi karena jenis pelarut yang digunakan berbeda. Menurut Sudarmadji *et al* (1997) efektivitas ekstraksi dipengaruhi oleh tingkat kelarutan bahan dengan pelarut. Suatu senyawa akan larut pada pelarut dengan tingkat kepolaran yang sama.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan mengandung tanin dengan kadar tanin sebesar 0,09 %. Adanya senyawa tanin pada ekstrak daun pegagan ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna ekstrak menjadi hijau setelah penambahan $FeCl_3$. Perubahan warna pada ekstrak dapat terjadi karena adanya reaksi reduksi. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol dimana senyawa polifenol ini akan bereaksi dengan $FeCl_3$

untuk mereduksi besi (III) menjadi besi (II) (Budini *et al.*, 1980). Pengujian saponin pada ekstrak daun pegagan hanya dilakukan secara kualitatif. Ekstrak daun pegagan dinyatakan positif mengandung saponin hal ini terbukti dengan terbentuknya busa yang stabil. Menurut Burger *et al* (1998) busa ini timbul karena adanya penurunan tegangan permukaan pada cairan (air). Penurunan tegangan permukaan disebabkan karena adanya senyawa sabun (*sapo*) yang dapat merusak ikatan hidrogen pada air.

Senyawa sabun ini biasanya memiliki dua bagian yang tidak sama sifat kepolaranya sehingga akan menimbulkan busa ketika dikocok.

Hasil Uji Konfirmasi *Escherichia coli* ATCC 8739

Pengujian Konfirmasi terhadap *Escherichia coli* ATCC 8739 meliputi bentuk dan warna koloni, pewarnaan gram, dan bentuk sel. Hasil uji konfirmasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji Konfirmasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739

| No | Parameter yang diamati | Hasil |
|----|------------------------|---------------|
| 1 | Bentuk koloni | Bulat |
| 2 | Warna koloni | Hijau metalik |
| 3 | Pewarnaan gram | Gram negatif |
| 4 | Bentuk sel | Batang pendek |

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa *Escherichia coli* memiliki bentuk koloni bulat, warna koloni hijau metalik, termasuk bakteri Gram negatif dan memiliki bentuk sel batang pendek. Hasil pengamatan terhadap bentuk koloni *Escherichia coli* sesuai dengan pernyataan Smith- Keary dalam Kusuma (2010) yang menyatakan bahwa *Escherichia coli* memiliki bentuk koloni bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata. Pengamatan terhadap warna koloni *Escherichia coli* pada media EMBA dihasilkan koloni berbentuk bulat berwarna hijau metalik. Perubahan warna hijau metalik pada media EMBA terjadi karena *Escherichia coli* dapat memfermentasi

laktosa yang mengakibatkan peningkatan kadar asam dalam media. Kadar asam yang tinggi dapat mengendapkan *metylen blue* dalam media EMBA.

Hasil pengamatan secara mikroskopik menunjukkan bahwa *Escherichia coli* ATCC 8739 merupakan bakteri Gram negatif. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya warna merah pada isolat bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739 di kaca preparat. Perbedaan ketebalan lapisan peptidoglikan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif mempengaruhi dari pewarnaan gram karena bakteri Gram positif saat proses pencucian dengan alkohol setelah penambahan kristal violet dan lugol akan tetap berwarna ungu

sedangkan bakteri Gram negatif akan berubah warna menjadi merah karena tidak cukup tebal memiliki peptidoglikan yang keluar dari dinding sel akibat pencucian oleh alkohol.

Penambahan safranin akan membuat bakteri Gram negatif berwarna merah karena bakteri Gram negatif akan menyerap zat warna sehingga mempertegas warna merah pada bakteri Gram negatif, sedangkan bakteri Gram positif tidak berpengaruh pada safranin sehingga warna tetap menjadi ungu (Fardiaz, 1989). Sel bakteri yang terlihat pada mikroskop berbentuk batang pendek. Hal ini sesuai

dengan pernyataan Dubreuil (2012) dimana *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek.

Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739

Berdasarkan uji daya hambat ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739 dengan menggunakan metode kontak menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739. Data penghambatan ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Daya hambat ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan *E.coli* ATCC 8739

| Waktu kontak | Jumlah <i>E.coli</i> setelah kontak (CFU/ ml) | Penurunan jumlah <i>E.coli</i> (CFU/ml) | Kematian bakteri uji (%) |
|---------------------|--|--|---------------------------------|
| 0 jam | $2,7 \times 10^8$ | 5 | 15,62 % |
| 6 jam | $3,3 \times 10^8$ | - 1 | - 3,12 % |
| 12 jam | $1,9 \times 10^8$ | $1,3 \times 10^1$ | 40,62 % |
| 24 jam | $4,4 \times 10^8$ | $- 1,2 \times 10^1$ | - 37,50 % |

Keterangan: nilai negatif pada tabel menunjukkan peningkatan jumlah bakteri.

Adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tidak terlepas oleh zat antibakteri yang dimiliki oleh pegagan. Menurut James (2009) komponen ekstrak pegagan yang memiliki sifat antibakteri adalah minyak atsiri, flavonoid, tanin dan saponin. Mekanisme flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen sehingga protein sel bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologisnya (Harborne, 1987).

Senyawa tanin mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat menyebabkan sel bakteri tersebut tidak dapat melakukan aktifitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat (Sulistyarini, 2014). Kemampuan senyawa saponin dalam menghambat pertumbuhan bakteri dilakukan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen sehingga dapat menghancurkan permeabilitas dinding sel

bakteri (J.Barnes *et al dalam* Ramadhan *et al.*, 2015).

Total *Eshcherichia coli* yang digunakan pada penelitian ini adalah $3,2 \times 10^8$ CFU/ml dan setelah dikontakkan pada waktu tertentu, total *Escherichia coli* yang tumbuh mengalami fluktuasi penurunan dan peningkatan total *Escherichia coli* kurang dari satu siklus log terhadap total *Escherichia coli* yang digunakan. Penurunan dan kenaikan bakteri ini dapat terjadi karena senyawa antibakteri yakni ekstrak daun pegagan bersifat bakteristatik. Antibakteri yang bersifat bakteristatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak membunuh. Senyawa antibakteri yang bersifat bakteristatik seringkali menghambat sintesa protein atau mengikat ribosom (Mardigan *et al.*,2000). Menurut Luck dan Jager (1997) perbedaan dari antibakteri yang bersifat bakteristatik dan bakterisidal adalah dalam kecepatan

kematian bakteri. Penggunaan antibakteri untuk jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kematian bakteri atau menyebabkan bakteri tumbuh kembali.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

1. Ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739.
2. Waktu kontak yang terbaik pada penelitian ini adalah 12 jam dengan penurunan *E.coli* sebesar $1,3 \times 10^1$ dan kematian bakteri uji sebesar 40,62 %.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap bakteri lain dengan waktu kontak yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustrina, G. 2011. Potensi Propolis Lebah Madu *Apis Mellifera Spp* sebagai Bahan Antibakteri. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Biradar, S.R dan B.D.Rachetti. 2013. Extraction of some secondary metabolites and thin layer chromatography from different parts of *Cantella asiatica* L (URB). America Journal of Life Sciences, 1(6) : 243-247.
- Budini, R., D. Tonelli dan S. Girotti. 1980. Analysis of Softening Enzymes During Cherry Maturation. J Agric Food Chem. 28: 1236-1238.
- Burger, I., B.V. Burger., C. F. Albrecht., H. S. C. Spicies, dan P. Sandor. 1998. Triterpenoid Saponin From *Bacium gradivlona* Var. *Obovatum*. Phytochemistry. 49 2087-2089
- Dash B. K., H. M. Faruquee, S.K. Biswas, M.K. Alam, S. M. Sisir, dan U. K. Prodhan. 2011. Antibacterial and Antifungal Activities of Several Extracts of *Centella asiatica* L. against Some Human Pathogenic

- Microbes. Life Sciences and Medicine Research. LSMR-35.
- Desmiaty, Y., J. Ratnawati., dan P. Andini. 2009. Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus Conoideus Lamk*) Secara Kalorimeter Komplementer. Fakultas Farmasi. Universitas Jendral Ahmad Yani. Cimahi. Jawa Barat.
- Deubreuil, J. D. 2012. The Whole Shebang: The Gastrointestinal Tract, *Escherichia coli* Enterotoxins and Secretion. Curr Issue Mol. Biol 14 pages 71-82. Univesity of Montreal. Canada.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. ITB Press. Bogor.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penerjemah : ITB Bandung, terjemahan dari Dictionary of Natural Product.
- James, J.T. 2009. Pentacilin Triterpenoid from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L) Urban. Molecules, 14:3922-3941.
- Juniarhati, P. E. 2011. Skrining Bakteri Asam Laktat Isolat Susu Sapi Bali Penghasil Bakteriosin Penghambat Bakteri Patogen *Escherichia coli* Penyebab Diare Akut. Skripsi. Jurusan Farmasi. Unversitas Udayana. Bali.
- Kusuma, S. A. F. 2010. *Escherichia coli* ATCC 8739. Makalah Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. Bandung.
- Luck, E dan Jager, M. 1997. Antimicrobial food additieves: characteristic, uses, effect. 2nd revised and enlarged edition. Springer Veriag Berlin Heidelberg. New York.
- Mardigan, M. T., J. M. Martinko dan J. Parker. 2000. Biology of Microorganisms. 8th edition. Pearson Prentice Hall. USA.
- Markham, K.R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Penerbit ITB.Bandung. Hal 1-173.
- Parhusip, A. J. N., M. T. D. Ambarita, L. Thresia. 2008. Kajian Metode Ekstraksi Antibakteri Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) Kering Terhadap Bakteri Patogen Pangan. Jurnal Ilmu dan teknologi Pangan Vol. 6, N0.1.
- Rajan, S., S. Mahalakshmi, V.M. Deepa, K. Sathya, S. Shajitha, dan T. Thiranalasundari. 2011. Antioksidant Potentials of *Punica Granatum Fruit* Rind Extract. Int J Pharm Sci. Vol 3, Issue 3, 2011, 8288.
- Ramadhan, N.S., R. Rasyid., E. Sy. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) yang Diambil di Batusangkar terhadap Pertumbuhan Kuman *Vibrio cholera* secara In Vitro. Jurnal Kesehatan Andalas 4 (1). Fakultas Kedokteran. Universitas Andalas. Padang..
- Selawa, W., M. R. J. ,Runtuwene., dan G. Citraningtyas. 2013. Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Androdera Cordifulic* (Ten.) Steenis.) FMIPA. Universitas Samratulangi. Manado.
- Siswadi, I. 2002. Mempelajari Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Andaliman (*Zanthoxilum acanthopodium* D.C) terhadap bakteri Patogen Perusak Makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suharji. 1997. Analisis Bahan Makanan dan Pertanian. Penerbit Liberti, Yogyakarta.
- Sulistyarini, I. 2014. Ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Sebagai Antibakteri Alami Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Program Studi D-III Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Pekalongan. Pekalongan.
- Winarto, W.P., dan Surbakti, M. 2013. Khasiat dan Manfaat Pegagan Tanaman Penambah Daya Ingat. Agromedia Pustaka. Jakarta.