

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
ISSN: 2302-5697
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**PENGARUH KONSENTRASI EKSTRAK KASAR KULIT BATANG KUSAMBI
(*Schleichera oleosa* (Lour) Oken) TERHADAP PERTUMBUHAN *IN VITRO*
BAKTERI *E. coli***

**THE EFFECT OF BARK CRUDE EXTRACT CONCENTRATIONS OF *Schleichera oleosa*
(Lour) Oken) ON THE *IN VITRO* GROWTH OF *E. coli***

Ni Made Susilawati^{1*}, Yan Ramona^{1,2,3}, I Made Oka Adi Parwata⁴

¹Progam Studi Magister Ilmu Biologi, Universitas Udayana

²Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Udayana

³UPT Lab Terpadu Biosain dan Bioteknologi, Universitas Udayana

⁴Progam Studi Magister Kimia Terapan, Universitas Udayana

*Email: madeanalisis@yahoo.co.id

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak kasar kulit batang kusambi (*Schleichera oleosa* (Lour) Oken) dalam menghambat pertumbuhan *in vitro* bakteri *E. coli*. Ekstrak kasar kulit batang kusambi dan bakteri *E. coli* diperoleh berturut-turut dengan metoda maserasi dalam larutan metanol dan dengan metoda pengenceran yang dilanjutkan dengan penyebaran pada medium nutrient agar (NA). Uji efektivitas ekstrak kasar ini dilakukan dengan menggunakan metoda sumur difusi pada medium NA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar kulit batang kusambi sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* secara *in vitro*. Zona hambat yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi yang didedahkan pada biakan *E. coli*.

Kata kunci: Kulit kayu Kesambi, Escherichia coli, Schleichera oleosa

ABSTRACT

The main objective of research was to investigate the effectiveness of *Schleichera oleosa* (Lour) Oken crude extract to inhibit the *in vitro* growth of *E. coli*. The crude extract of the plant and the *E. coli* used in this study were obtained by applying the method of maceration in methanol solution and the method of dilution and spread plate on nutrient agar (NA) medium, respectively. The *in vitro* bioassay of the extract on *E. coli* was conducted by applying the method of diffusion on NA medium. The results showed that the crude extract of *Schleichera oleosa* (Lour) Oken was found to be effective to inhibit the growth of *E. coli* in the *in vitro* tests. The diameter of inhibition zone was proportional with the extract concentration exposed to the *E. coli*.

Keywords: Kesambi tree bark, Escherichia coli, Schleichera oleosa

PENDAHULUAN

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan salah satu flora normal saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas lainnya yang sering

mengkontaminasi makanan, termasuk daging dalam keadaan mentah (Januartha, 2012). Kontaminasi dapat terjadi selama persiapan dan pengolahan makanan. Jika tidak ditangani

dengan baik, kontaminan ini dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan pada manusia yang mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri ini.

Dalam bidang kesehatan, pertumbuhan *E. coli* umumnya dikontrol dengan memberikan antibiotik kepada pasien. Berbagai antibiotik, seperti tetrasiklin, ampicilin, dan amoxicillin telah banyak dipakai dalam mengobati pasien yang terinfeksi oleh *E. coli* (Pathak *et al.*, 2011). Penggunaan antibiotik dalam waktu panjang akan berpengaruh negatif pada pasien dan memacu kemunculan sifat resisten pada bakteri patogen tertentu (Noviana, 2004; Shakya *et al.*, 2013). Salah satu upaya yang dilakukan dalam bidang farmasi untuk mengurangi efek negatif penggunaan antibiotika adalah menggunakan bahan alam (ekstrak komponen tanaman) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Kusambi merupakan salah satu tumbuhan yang sudah dipakai secara turun temurun untuk bahan bakar pengasapan daging Se'i di daerah Timor timur (Raza *et al.*, 2012). Dalam asap yang dihasilkan diduga terdapat berbagai senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba pencemar daging Se'i. Hal ini berdasarkan pada pernyataan yang dilaporkan oleh Raza *et al.* (2012) yang mendapatkan hasil bahwa ekstrak kayu kusambi dapat menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan pada daging Se'i. Berdasarkan pada latar belakang tersebut, maka pada penelitian ini dikaji efektivitas ekstrak kasar kulit batang tanaman kusambi dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dalam uji-uji *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Isolasi bakteri *E. coli* dan penentuan total cemar

Bakteri yang dipakai dalam penelitian ini diisolasi dari daging Se'i yang diperdagangkan di daerah Kupang. Sebanyak 15 sampel daging (masing-masing 20 gram) diambil secara aseptik, dimasukkan ke dalam *cool box*, dan dibawa ke laboratorium untuk dianalisis lebih lanjut. Penentuan total bakteri kelompok coliform dan *E. coli* dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 10 g daging sampel dan dimasukkan ke dalam

90 mL larutan salin untuk mendapat tingkat pengenceran sebesar 10^{-1} . Hasil pengenceran ini diencerkan lebih lanjut hingga tingkat pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya, sebanyak 1 mL dari tingkat pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-6} disebar pada medium EMBA, diinkubasi pada temperatur 37°C selama 48 jam, dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Koloni yang berwarna hijau metalik kemudian diisolasi dan dipakai pada penelitian selanjutnya.

Konfirmasi kehadiran *E. coli*

Untuk memperoleh kepastian bahwa koloni yang berwarna hijau metalik adalah bakteri *E. coli*, maka dilakukan uji-uji konfirmasi, seperti pewarnaan Gram, uji pertumbuhan pada media IMVIC dan *Sorbitol Mac Conkey Agar*. Hasil yang diperoleh kemudian dicocokkan dengan karakteristik *E. coli* yang tertera pada buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Brenner *et al.*, 2005).

Ekstraksi senyawa aktif dari kulit batang kusambi

Kulit batang kusambi yang berwarna coklat tua mula-mula dicuci, dikeringanginkan, dan digiling atau diblender sampai menjadi serbuk. Selanjutnya, sebanyak 300 g dari simplisia ini dimaserasi dalam pelarut metanol. Maserasi dilakukan berulang-ulang sebanyak 3 kali sambil di kocok dengan cara mengganti pelarutnya dengan pelarut baru. Maserasi pertama, kedua, dan ketiga dilakukan selama 4 hari dalam pelarut metanol sebanyak masing-masing 1000 ml. Semua ekstrak cair yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* (merk Eyela) bertekanan rendah pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kasar (*crude extract*). Ekstrak kasar ini selanjutnya diencerkan dengan pelarut metanol sehingga diperoleh konsentrasi yang bervariasi antara 0,5% sampai 5,0% (b/v) untuk selanjutnya dipakai dalam *bioassay*.

Bioassay ekstrak pada biakan *E. coli*

Uji aktivitas ekstrak dilakukan terhadap isolat *E. coli* pada media *Nutrient Agar*

(NA). Media NA yang masih encer (suhu 45⁰C) sebanyak 10 ml dituangkan dalam cawan Petri steril yang sudah berisi 1 ml suspensi *E. coli*, di campur merata, dan setelah padat di buat sumur pada bagian tengah media tersebut dengan menggunakan *cork borer* yang berdiameter 5 mm. Selanjutnya, sebanyak 20 µl ekstrak kasar kulit batang kusambi dengan konsentrasi yang bervariasi antara 0,5-5,0% (b/v) dimasukkan ke dalam sumur dengan menggunakan pipet mikro, di inkubasi selama 24 jam, dan diamati diameter zona hambat yang terbentuk. Sebagai kontrol, pada sumur yang lain dimasukkan sebanyak 20 µl pelarut ekstrak (metanol). Penentuan kategori daya hambat ekstrak ditentukan berdasarkan kriteria yang dibuat oleh Ardiansyah (2005).

HASIL

Total cemaran dan konfirmasi *E. coli*

Tingkat cemaran bakteri (*total count*) dan *E. coli* daging Se'i babi yang diambil dari 15 rumah makan yang berada di wilayah Kota Kupang yang berkisar antara penulisan 3,93

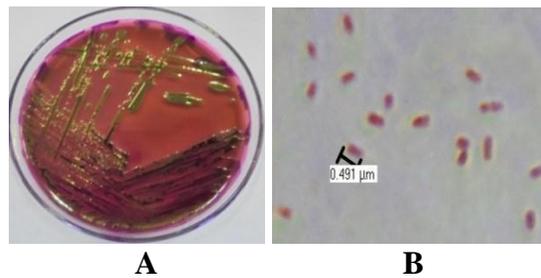
sampai 4,33 log₁₀ cfu/g daging ditunjukkan pada Tabel 1. Dari 15 sampel daging yang diperiksa, sebanyak dua sampel ditemukan terkontaminasi oleh *E. coli*. Kehadiran *E. coli* pada sampel dikonfirmasi dari beberapa hasil uji yang dilakukan pada koloni yang berwarna hijau metalik pada permukaan medium *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C (1A). Hasil pewarnaan Gram yang menunjukkan bahwa koloni-koloni pada EMBA yang bersifat Gram negatif dan sel yang berbentuk batang pendek (Gambar 1B) menguatkan konfirmasi bahwa koloni-koloni tersebut teridentifikasi sebagai *E. coli*.

Hasil uji-uji tambahan yang memperkuat dugaan bahwa kedua isolat tersebut merupakan spesies *E. coli* adalah reaksi sulfid: negatif, Indol: positif (terbentuk cincin warna merah), motilitas: positif, *methyl red*: positif (berwarna merah), *Voges Proskauer*: negatif, Simon Sitrat: negatif (berwarna hijau), dan TSI agar: asam (dasar dan lereng berwarna kuning) disertai dengan gas.

Tabel 1. *Total Plate Count* dan *Escherichia coli* yang terdapat pada daging Sei Babi

No	Kode Sampel	Total Plate Count (Log ₁₀ cfu/g)*	<i>Escherichia coli</i>
1	01	3,98 ± 2,77	Negatif(-)
2	02	4,02 ± 2,78	Negatif(-)
3	03	3,99 ± 3,01	Negatif(-)
4	04	3,98 ± 2,47	Negatif(-)
5	05	4,14 ± 3,15	Negatif(-)
6	06	4,33 ± 2,97	Negatif(-)
7	07	4,03 ± 4,05	Positif (+)
8	08	4,05 ± 2,87	Negatif(-)
9	09	4,06 ± 2,95	Negatif(-)
10	10	4,13 ± 3,20	Positif(+)
11	11	3,94 ± 2,99	Negatif(-)
12	12	3,93 ± 2,92	Negatif(-)
13	13	3,95 ± 2,81	Negatif(-)
14	14	3,97 ± 2,57	Negatif(-)
15	15	3,95 ± 2,20	Negatif(-)

*Nilai pada Tabel ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga ulangan.



Gambar 1. (A) koloni *Escherichia coli* pada media EMB agar dan (B) bakteri *Escherichia coli* hasil pewarnaan Gram

Bioassay ekstrak pada *E. coli*

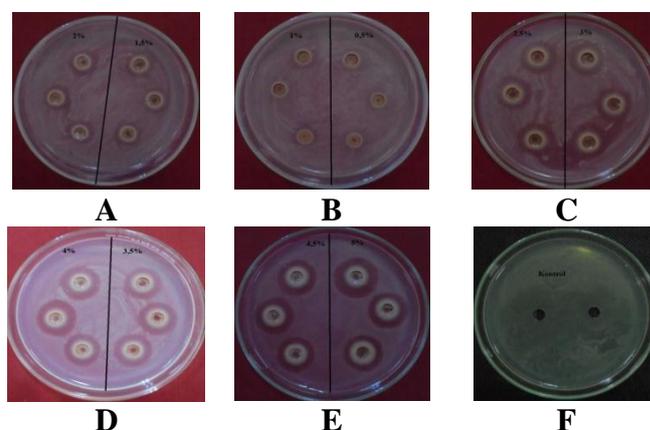
Secara kuantitatif ekstrak kulit batang kusambi mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* pada media NA (Gambar 2). Besarnya diameter zona hambatan yang terbentuk pada kultur *E. coli* setelah didedahkan dengan ekstrak

kasar kulit batang kusambi ditunjukkan pada Tabel 2. Data pada Tabel 2 menunjukkan secara nyata bahwa semakin tinggi konsentrasi yang dipakai dalam bioassay ini semakin besar zona hambatan yang terbentuk di sekitar sumur difusi.

Tabel 2. Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang Kusambi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *E. coli* Pada Media NA Setelah Inkubasi Dua Hari.

Konsentrasi Ekstrak (% b/v)	Zona hambatan (mm)*
0,0	0,00 ± 0,00 a
0,5	10,33 ± 0,58 b
1,0	11,33 ± 0,58 b
1,5	13,33 ± 0,58 c
2,0	14,33 ± 0,58 c
2,5	17,33 ± 0,58 d
3,0	18,67 ± 0,58 e
3,5	19,33 ± 0,58 ef
4,0	20,33 ± 0,58 fg
4,5	20,67 ± 0,58 gh
5,0	21,67 ± 1,2 h

*Keterangan: Nilai –nilai pada tabel ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (P>0,05), berdasarkan uji Duncan setelah dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA).



Gambar 2: Zona Hambat Yang Terbentuk Disekitar Sumur Difusi Yang Diisi Ekstrak Kulit Batang Kusambi . A: konsentrasi 0,5 % dan 1 %, B: konsentrasi 1,5 % dan 2,0 %, C: konsentrasi 2,5 % dan 3,0 %, D: konsentrasi 3,5 % dan 4,0 %, E: konsentrasi 4,5 % dan 5,0 %, F: Kontrol.

Kisaran hambatan yang terbentuk akibat perlakuan dengan ekstrak kulit batang pada kisaran konsentrasi 0,5% dan 5% adalah sebesar 10,33 dan 21,67 mm. Hasil ini secara nyata memberikan informasi bahwa ekstrak kasar kulit batang tanaman ini dapat menghambat pertumbuhan *E. Coli* yang mengkontaminasi Se'i babi.

PEMBAHASAN

Bakteri pembusuk, seperti kelompok coliform dan *coli fecal* atau *E. coli* sangat mudah mengkontaminasi daging yang sangat kaya dengan kandungan nutrisi (Xiong, *et al*, 1993; Triyantini *et al.*, 1997). Kehadiran kelompok bakteri ini pada daging akan memperpendek masa simpan daging. Selain itu, berbagai penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan akan sangat mudah terjadi apabila daging yang terkontaminasi ini tidak diolah dengan baik sebelum dikonsumsi. *E. coli* (khususnya strain O157) misalnya, sangat sering menyebabkan masalah kesehatan saluran pencernaan, karena dapat menyebabkan terjadinya diare yang disertai pendarahan (Jawetz *et al.*, 2005). Berbagai jenis daging olahan, termasuk Se'i dapat dikontaminasi oleh strain ini, sehingga waktu simpan bahan makanan tersebut menjadi sangat pendek dan membahayakan kesehatan manusia yang mengkonsumsinya.

Hasil penghitungan bakteri pencemar yang terdapat pada sampel daging Se'i (Tabel 1) menunjukkan bahwa kandungan total bakteri pencemar sudah jauh melampaui nilai standar baku mutu yang ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia SNI no 7488:2009. Dalam SNI ditetapkan bahwa daging tidak boleh mengandung lebih dari 3 cfu/g daging. Dalam penelitian ini (Tabel 1) diperoleh data bahwa kandungan total bakteri per gram daging Se'i mencapai jumlah yang bervariasi antara 3,93 sampai 4,33 log₁₀ cfu /gram daging. Hasil ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Raza *et al.* (2012) yang memeriksa kandungan bakteri pencemar dalam daging yang diambil dari pasar-pasar di daerah Kupang.

Pada Tabel 1 juga tercatat bahwa terdapat dua sampel yang terkontaminasi oleh *E. coli*. Hal

ini menunjukkan bahwa telah terjadi pencemaran oleh komponen *fecal* manusia atau hewan berdarah panas lainnya (Borrego *et al.*, 1990; Edberg *et al.*, 2000). Kehadiran *fecal* coliform ini juga mengindikasikan bahwa sangat mungkin ditemukan bakteri patogen saluran pencernaan lainnya pada daging yang diperiksa, karena *E. coli* sering berasosiasi sangat dekat dengan berbagai patogen, seperti *Salmonella thypi*, *Shigella* sp., *Vibrio* sp., dan lain sebagainya (Craun *et al.*, 1997).

Pengasapan pada daging merupakan salah satu metoda untuk mengurangi tingkat cemaran pada daging oleh *E. coli* (Raza *et al.*, 2012). Senyawa aktif yang terkandung dalam materi tanaman yang dibakar akan terbawa dalam asap, menempel pada daging, dan berperan dalam menekan laju pertumbuhan mikroba pencemar pada daging.

Kehadiran senyawa aktif dalam ekstrak kasar kulit batang kusambi dibuktikan dengan *bioassay* terhadap *E. coli* yang diisolasi dari sampel daging Se'i (Tabel 2 dan Gambar 2). Diameter zona hambatan yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi yang didedahkan pada biakan *E. coli*, berkisar antara 10,33 ± 0,58 mm sampai 21,67 ± 1,2 mm. Hasil ini berbeda nyata secara statistik ($p < 0,05$), jika dibandingkan dengan kontrol yang tidak memberikan hambatan pada biakan *E. coli* (Tabel 2 dan Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa zona hambatan tersebut pasti disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak.

Walaupun tidak dielusidasi dalam penelitian ini, beberapa peneliti, seperti Amarowicz dan Karamac (2003) dan Agrawal, dan Talele (2011) melaporkan bahwa tumbuhan dapat menghasilkan berbagai metabolit primer atau sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Senyawa fenol merupakan salah satu senyawa aktif yang paling sering teridentifikasi sebagai senyawa toksik bagi mikroba (Puupponen-Pimia *et al.*, 2001; Ghosh *et al.*, 2011; dan Nitiema *et al.*, 2012). Oleh karena itu, penentuan total fenol pada bahan alam merupakan tahap awal yang harus dilakukan dalam proses pengembangan bahan alam sebagai bahan anti mikroba (Albayrak *et al.*, 2010).

Senyawa fenol tersebar sangat luas pada bahan alam. Senyawa ini dapat ditemukan pada hampir semua organ tanaman, termasuk kulit kayunya (Manach *et al.*, 2004). Kehadiran senyawa fenol dalam jumlah besar pada suatu ekstrak akan memungkinkan terbentuknya senyawa kompleks berukuran besar (khususnya bila terbentuk senyawa kompleks antara senyawa fenol dengan protein dan makromolekul lain, seperti selulosa dan pectin (McLeod, 1974; Mueller-Harvey dan McAllan, 1992). Selain itu, senyawa fenol juga dapat membentuk ikatan kompleks dengan membran plasma sel bakteri (Zongo *et al.*, 2011), sehingga dapat mengganggu permeabilitas membran sel atau memacu terjadinya lisis pada sel bakteri (Harbone, 2006). Fenomena inilah yang menyebabkan senyawa fenol tersebut dapat berperan sebagai senyawa antibakteria (Funatogawa *et al.*, 2004; Tavassoli and Djomeh, 2011).

KESIMPULAN

Ekstrak kasar kulit batang kusambi berpengaruh sangat nyata ($p < 0.05$), jika dibandingkan dengan kontrol, dalam menghambat pertumbuhan *in vitro* bakteri *E. coli*, dengan diameter zona hambat yang berkisar antara $10,33 \pm 0,58$ mm dan $21,67 \pm 1,2$ mm.

SARAN

Penelitian lanjutan yang perlu dilakukan antara lain analisis golongan senyawa aktif yang terdapat pada kulit batang kusambi dan elusidasi jenis senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak kulit batang kusambi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis disampaikan kepada staf Lab. Bersama FMIPA dan Lab. Biopestisida Universitas Udayana, Lab. Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang atas bantuannya dalam berbagai analisis yang diperlukan selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Agrawal, S.S. and G.S.. Talele. 2011. Bioactivity guided isolation and characterization of the

- phytoconstituents from the *Tridax procumbens*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. Vol. 21: pp. 58-62.
- Amarowicz, R. and M. Karamac. 2003. Antioxidant activity of phenolic fractions of lentil (*Lens culznaris*). *Journal of Food Lipids*. Vol. 10: pp. 1-10.
- Albayrak, S., A. Aksoyl, O. Sagdic, and U. Budak. 2010. Phenolic compound and Antioxidant and Antimicrobial. *Turk J.B.*34:463-473
- Ardiansyah. 2005. Antimikroba dari Tumbuhan (serial online), [cited 2014 April.1]. Available From : URL <http://www.berita.iptek.com>.
- Borrego, J.J., R. Cornax, M.A. Morinigo, E. Martinez-Manzares and P. Romero. 1990. Coliphages as an indicator of faecal pollution in water. Their survival and productive infectivity in natural aquatic environments. *Water Research*. Vol. 24: pp. 111-116.
- Brenner, D. J., N.R. Krieg and J.T. Staley. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. John Willey and Sons. New York.
- Craun, G.F., P.S. Berger and R.L. Calderon. 1997. Coliform bacteria and waterborne disease outbreaks. *Journal of the American Water Works Association*. 89(3):96-104.
- Edberg, S.C., E.W. Rice, R.J. Karlin and M.J. Allen. 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology - Symposium Supplement*. Vol. 88: pp. 106S-116S.
- Funatogawa, K., S. Hayashi, H. Shimomura, T. Yoshida, T. Hatano, H. Ito and Y. Iría, 2004. Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.*, 48: 251-261.
- Ghosh, P., P. Chakraborty, A. Mandal, M.G. Rasul, M. Chakraborty and A. Saha. 2011. Triterpenoids from *Schleichera oleosa* of Darjeeling Foothills and Their Antimicrobial Activity. *Pharmaceutical Sciences. Indian Journal*. Vol. 73(2): pp. 231-233.

- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia - Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Jawetz, Melnick, and Adelberg. 2005. *Medical Microbiology*. Penerjemah Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Januartha, K. P., A. Yelly, dan A. Agus. 2012. Deterksi Bakteri *Escherichia coli* Serotipe O157 pada daging Babi Dari Pedagang Daging Babi di Kota Denpasar. *Medicina*, 43: 3-8
- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy and L. Jiménez, 2004. Polyphenols, food sources and antimicrobial agents with high activity against an bioavailability. *Am. J. Clin. Nut.*, 79: 727-747.
- McLeod, M.N., 1974. Plant tannins - their role in forage quality. *Nutr. Abstr. Rev.*, 44: 803-815.
- Mueller-Harvey, I. and A.B. McAllan. 1992. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.*, 1: 151-217.
- Nitiema, L.W., A. Savadogo, J. Simporé, D. Dianou and A.S. Traore. 2012. In Vitro Antimicrobial Activity Of Some Phenolic Compounds (Coumarin And Quercetin) Against Gastroenteritis Bacterial Strains. *Int J Microbiol Res.* 3 (3):183-7.
- Noviana, H. 2004. Pola kepekaan antibiotika *Escherichia coli* yang diisolasi dari berbagai spesimen klinis. *J Kedokteran Trisakti*. Vol. 23(4):122-126.
- Pathak A., K. Mahadik, S.P. Dhaneria, A. Sharma, B. Eriksson and C.S. Lundborg 2011. Antibiotic prescribing in outpatients: Hospital and seasonal variations in Ujjain India. *Scand J Infect Dis*. Vol 43(6-7):pp. 479-488.
- Puupponen, P.R., L. Nohynek, C. Meier, M. Kahkonen, M. Heinonen, A. Hopia and K.M. Oksman-Caldentey. 2001. Antimicrobial Properties Of Phenolic Compounds From Berries. *J. Appl Microbiol*. Apr. 90 (4):494-507.
- Raza, E.M.U., K. Suada dan H. Mahatmi. 2012. Beban Cemaran Bakteri *Escherichia coli* pada Daging Asap Se'i Babi yang Dipasarkan di Kota Kupang Indonesia. *Medicus Veterinus*. Vol 1(4): 453-470.
- Shakya, P., P. Barrett, V. Diwan, Y. Marothi, H. Shah, N. Chhari, A.J. Tamhankar, A. Pathak and C.S. Lundborg. 2013. Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolates from stool samples of children aged 3 to 14 years from Ujjain, India. *BMC Infectious Diseases*. Vol. 13: pp. 477- 482.
- Tavassoli, S. and Z.E. Djomeh. 2011. Total Phenols, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Methanol Extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Global Veterinaria*, 7(4): 337-341.
- Triyantini, Abubakar, I.A.K. Bintang, dan T. Antawidjaja. 1997. Studi komparatif preferensi, mutu dan gizi beberapa jenis daging unggas. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. Vol.2 (3): 157-163.
- Xiong, Y.L., A.N. Cantor, A.J. Pescatore, S.P.B. Chard and M.L. Straw. 1993. Variations in muscle chemical composition, pH, and protein extractability among eight different broiler crosses. *Poult. Sci.* 72 :583 - 588.
- Zongo, C., A. Savadogo, K.M. Somda, J. Koudou and A.S. Traore. 2011. In vitro evaluation of the antimicrobial and antioxidant properties of extracts from whole plant of *Alternanthera pungens* H.B. & K. and leaves of *Combretum sericeum* G. Don. *International Journal of Phytomedicine*, Vol. 3: 18.