Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro

Effect Of Pegagan Leaves (*Centella asiatica*) Ethanol Extract On The Growth Of *Escherichia coli* In Vitro

Khusnul*, Rima Anggraeni, Tanendri Arrizqiyani

Program Studi DIII Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Jawa Barat, Indonesia

*Email: khusnul@stikes-bth.ac.id

ABSTRAK

Daun pegagan (*Centella asiatica*) merupakan salah satu tanaman liar yang memiliki daerah penyebaran sangat luas. Tanaman ini banyak dimanfaatkan sebagai tanaman untuk mengobati diare. Diare dapat bersifat akut atau kronis, penyebabnya selain racun juga higienis dan sanitasi lingkungan serta infeksi bakteri patogen seperti *Escherichia coli*. Namun, daun pegagan yang memiliki potensi sebagai antibakteri dengan jumlahnya yang banyak, belum diteliti oleh peneliti yang menguji potensi daun pegagan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh kemampuan daya hambat ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Uji daya hambat ekstrak etanol daun pegagan dilakukan dengan metode Kirby-Bauer. Daun pegagan di ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 70%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, dan 30%. Hasil yang di amati berupa zona hambat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci : *Centella asiatica*, *Escherichia coli*, Kirby-Bauer, daya hambat.

ABSTRACT

Pegagan leaf (*Centella asiatica*) is a wild plant that has a very wide distribution area. This plant is widely used as a plant to treat diarrhea. Diarrhea can be acute or chronic, the causes are not only toxic but also hygienic and environmental sanitation as well as infection with pathogenic bacteria such as *Escherichia coli*. However, pegagan leaves which have the potential as antibacterial in large numbers, have not been studied by researchers who tested the potential of pegagan leaves against the growth of *Escherichia coli* bacteria. The aim of this study was to determine the effect of the inhibitory ability of the ethanol extract of pegagan leaves (*Centella asiatica*) on the growth of *Escherichia coli*. Inhibition test of pegagan leaf ethanol extract was carried out using the Kirby-Bauer method. Gotu kola leaves were extra-

Corresponding Author: Khusnul

Address: Program Studi DIII Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Jawa Barat, Indonesia

Email: khusnul@stikes-bth.ac.id

cted by maceration using 70% ethanol. The extract concentrations used were 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, and 30%. The observed results are in the form of an inhibition zone. The results showed that pegagan leaf extract (*Centella asiatica*) affected the growth of *Escherichia coli* bacteria.

Keyword: *Centella asiatica*, *Escherichia coli*, Kirby-Bauer, Inhibition Zone

PENDAHULUAN

Daun Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan salah satu tanaman liar yang memiliki daerah penyebaran sangat luas terutama di daerah tropis dan sub tropis. Pegagan merupakan tanaman herbal menahun tanpa batang tetapi dengan rimpang pendek dan stolon-stolon yang melata dengan panjang antara 10 – 80 cm. Daun tunggal tersusun dalam roset yang terdiri dari 2 – 10 daun kadang-kadang berambut, tangkai daun panjang sampai 50 mm, helai daun berbentuk ginjal, lebar dan bundar dengan garis tengah 1 – 7 cm, pinggir daun beringgit sampai bergerigi terutama kearah pangkal daun. Bunga kecil berwarna merah jambu/kemerahan berupa payung tunggal atau 3 – 5 bersama-sama keluar dari ketiak daun kelopak, gagang perbungaan 5-50 mm lebih pendek dari tangkai daun (Dalimartha, 2000).

Tanaman ini banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat, sayuran segar, lalapan atau dibuat jus (Kartasapoetra, 2006). Bagian tanaman pegagan yang berkhasiat sebagai obat adalah daun, akar dan batang. Tanaman pegagan biasanya dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang diproses dalam bentuk bahan segar, kering maupun yang sudah dalam bentuk ramuan (jamu). Secara empiris pegagan mengandung senyawa antioksidan yang banyak digunakan sebagai bahan simplasia obat. Antioksidan termasuk dalam golongan triterpenoid turunan alfa amyirin. Tanaman Pegagan dipercaya dapat dapat meningkatkan pertahanan tubuh, membersihkan darah dan memperlancar air seni dan di Thailand, pegagan digunakan untuk obat diare (Dalimartha, 2000).

Penyakit diare ditemukan dikalangan penduduk dalam kondisi masyarakat dan lingkungan yang buruk. Diare

merupakan penyakit yang terjadi karena pola hidup yang tidak memenuhi peraturan kesehatan atau tingkat kebersihan yang masih kurang memadai. Penyebab diare juga dapat dipengaruhi oleh mikroorganisme yaitu bakteri yang terdapat pada kotoran manusia dan hewan, seperti bakteri *Escherichia coli*.

Escherichia coli (*E.coli*) adalah kuman oportunistis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan travelers diarrhea, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain diluar usus. Genus *Escherichia* terdiri dari dua spesies yaitu *Escherichia coli* dan *Escherichia* *bermanii* (Syahrurachman, 1995).

Daun pegagan dapat membunuh mikroba dan berkhasiat untuk peningkatan kecerdasan, antisporsis, serta sebagai antibakteri (Permadi, 2006). Berdasarkan penelitian Nelvita Sari (2015) daun pegagan berpotensi sebagai obat diare, dibuktikan dengan

hasil daya hambat ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* penyebab diare, hasilnya ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* pada konsentrasi 50% dengan diameter zona hambat 16,3 mm.

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Dash, *et al* (2011) yaitu tentang aktifitas daya hambat beberapa ekstrak *Centella asiatica* beberapa mikroba patogen terhadap manusia, hasilnya menunjukkan terdapat aktivitas antimikroba yang cukup tinggi dari ekstrak n-heksana (rerata daya hambat 12-19 mm), ekstrak air (rerata zona hambat 8-14 mm) sedangkan ekstrak n-heksana tidak menunjukkan aktivitas daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Selain dari beberapa penelitian tersebut belum banyak penelitian tentang potensi ekstrak etanol daun pegagan sebagai antibakteri pada *Escherichia coli*, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap pertumbuhan

bakteri *Escherichia coli* secara invitro.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen. Tanaman yang digunakan yaitu daun pegagan yang diperoleh dari pekarangan rumah di kampung Lembur balong kota Banjar. Jenis pegagan yang dipakai adalah jenis pegagan biasa yang tumbuh liar di sekitar rumah. Daun pegagan di bersihkan dengan air, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Dilanjutkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai kadar airnya berkurang. Setelah kering diblender untuk menghasilkan serbuk simplisia (DepKes RI, 1997).

1. Ekstraksi daun Pegagan

a. Pembuatan simplisia

Jenis pegagan yang dipakai adalah jenis pegagan biasa yang tumbuh liar di sekitar rumah. Daun pegagan di bersihkan dengan air, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Dilanjutkan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai kadar airnya

berkurang. Setelah kering diblender untuk menghasilkan serbuk simplisia (DepKes RI, 1997).

b. Pembuatan ekstrak daun Pegagan
Sedian ekstrak etanol dibuat dengan cara meserasi, yaitu dengan merendam simplisia daun pegagan sebanyak 100 gram dalam 1 Liter pelarut etanol 70% selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam, ekstrak dipisahkan menggunakan kertas saring. Maserat yang diperoleh dikumpulkan dan pelarutnya diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental dan hasilnya ditimbang (BPOM.2004).

c. Uji Fitokimia

Ekstrak yang telah diperoleh kemudian diidentifikasi kandungan kimianya menggunakan uji kualitatif. Adapun parameter fitokimia yang akan di uji adalah :

1) Flavonoid

Sebanyak 0,5 Gram ekstrak daun pegagan ditambah 100 mL air panas, kemudian di didihkan

selama 5 menit, disaring sehingga diperoleh filtrat yang digunakan sebagai larutan percobaan. Kedalam 5 mL larutan percobaan ditambahkan serbuk magnesium dan 1 mL HCL pekat. Selanjutnya di tambahkan amil alkohol dikocok dengan kuat dan biarkan memisah. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga dalam larutan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid (DepKes RI, 1995).

2) Saponin

Ekstrak daun pegagan sebanyak 0,5 gram dimasukan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas dan didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 menit, hasilnya positif bila penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (DepKes RI, 1997).

3) Tanin

Ekstrak daun pegagan sebanyak 0,5 gram ditambahkan 3 tetes $FeCl_3$ 1%, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman untuk tanin galat dan warna hijau kehitaman

untuk tanin etanol (DepKes RI, 1997).

2. Uji antibakteri ekstrak daun pegagan terhadap bakteri *Escherichia coli*

1) Penanaman pada media

a) Dituangkan media Mueller-Hinton suhu 45°C yang masih cair sebanyak 12 mL. (ketebalan kira-kira $\pm$ 4-5 mm) kedalam cawan petri yang steril, goyankan dan biarkan membeku.

b) Suspensi bakteri *E.coli* kepadatan bakteri disebarkan dengan batang kaca bengkok kedalam media Mueller-Hinton yang belum membeku sebanyak 1,0 mL. Lempengan agar dibiarkan mengering selama 5 menit.

c) Ditusukan tabung durham yang sudah di autoclave terlebih dahulu kedalam media MH yang telah padat, lalu akan membentuk lubang sumuran, ekstrak daun pegagan dimasukan kedalam sumuran sampai permukaan media.

d) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3. Analisis Data

Analisis Data Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah diameter zona hambat berupa zona jernih disekitar paper disk blank. Data hasil pengujian dianalisis secara statistik menggunakan metode One way anova (analisis varian satu arah) dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$, dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian daya hambat ekstrak etanol daun pegagan terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan sampel sebanyak 24 pengujian, pada konsentrasi 30% sampai konsentrasi 100% terdapat zona hambat (mm), dimana zona tersebut ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan jamur di sekeliling cakram yang masing-masingnya memiliki diameternya berbeda-beda, pada konsentrasi 30% rerata daya hambat sebesar 5 mm, 40% sebesar 10 mm, 50% sebesar 12 mm, 60% sebesar 16 mm, 70% sebesar 18 mm, 80% sebesar 20 mm, 90% sebesar 22 mm, 100% sebesar 24 mm dan Kontrol Positif sebesar 26 mm.

Data analisis varian satu arah atau one way anova menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antara perlakuan beberapa konsentrasi ekstrak daun pegagan terhadap diameter zona hambat *E.coli* dimana $p=0,000$ atau nilai $p<0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak etanol daun pegagan berpengaruh terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, Hasil uji Duncan menunjukkan rerata diameter daya hambat yang berbeda-beda dari setiap konsentrasi Hasil perlakuan ekstrak daun pegagan hampir seluruh konsentrasi menunjukkan efektifitas yang berbeda-beda, Adapun hasil uji tersebut tersaji pada tabel 1.

Zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun pegagan berbeda semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun pegagan, maka semakin besar diameter zona hambat yang ditunjukkan terhadap bakteri *Escherichia coli*. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% pelarut etanol dipilih berdasarkan ketertarikan senyawa aktif yang berkhasiat sebagai antibakteri

(BPOM, 2004). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun pegagan berarti semakin pekat larutan tersebut dan semakin banyak pula jumlah zat-zat antimikroba yang terkandung didalamnya. Bila zat antimikroba didalam ekstrak etanol daun pegagan semakin besar, maka semakin besar

pula bakteri *Escherichia coli* yang dirusak baik itu struktur tubuh maupun sistem metabolismenya, sehingga bakteri yang terkena oleh zat antimikroba tersebut akan mati atau dihambat pertumbuhannya. (Winarto, 2003).

Tabel 1. Rerata Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Rerata Daya Hambat Dan Respon Kemampuan Daya Hambat	
30%	5 ^a	Resisten
40%	10 ^b	Resisten
50%	12 ^c	Resisten
60%	16 ^d	Intermediet
70%	18 ^e	Sensitif
80%	20 ^f	Sensitif
90%	22 ^g	Sensitif
100%	24 ^h	Sensitif
Control (+)	26 ⁱ	Sensitif
Control (-)	0	

Keterangan : Kontrol (+) = Ketokonazol 2%, Kontrol (-) = Aquadest Steril
 Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda pada tingkat kesalahan 5%,
 Sensitif ≥ 18 , Intermediet = 13 – 17, Resisten ≤ 12 Menurut Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI)

Berdasarkan hasil penelitian pada kontrol positif kloramfenicol, zona hambat terlihat jelas dengan diameter sebesar 26 mm artinya kloramfenicol sensitif, sangat peka terhadap bakteri *Escherichia coli*, pada konsentrasi

ekstrak daun pegagan 100% ada zona hambat sebesar 24 mm disekitar sumuran, yang artinya konsentrasi ekstrak daun pegagan 100% sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli*. Ekstrak etanol daun pegagan pada

konsentrasi 70%, 80% dan 90% juga sama sensitifnya dengan kloramfenicol. Kloramfenicol sensitif pada diameter ≥ 18 mm dan resisten pada diameter ≤ 12 (Clinical and Laboratory Standart Institute).

Penelitian lainnya yang berkaitan aktifitas antibakteri dari ekstrak pegagan menurut Idris dan Nadzir (2017) yaitu aktivitas antibakteri pada konsentrasi ekstrak etanol 100% dapat menghambat *Bacillus subtilis* secara efektif sebesar (16,4 mm) diikuti pada konsentrasi 70% (12,2 mm). Pada konsentrasi 30% terdapat zona hambat terkecil dengan diameter hambat 6,4 mm. Ekstrak metanol, zona hambatan sebesar 10,3 mm pada 100% dan 10,1 mm pada konsentrasi 70% tetapi daya hambat sebesar 5,6 mm pada 30% konsentrasi. Selain aktifitas ekstrak etanol dan methanol, *Bacillus subtilis* juga pertumbuhannya dapat terhambat oleh ekstrak air pegagan dengan diameter zona hambat 8,4 mm pada konsentrasi 100% dan 8,2 mm pada konsentrasi 70%, sedangkan diameter zona hambat terkecil sebesar 6.0 mm pada konsentrasi 30%.

Menurut Prakash *et al.* (2017) berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya tentang aktifitas beberapa ekstrak tanaman pegagan sebagai antibakteri dengan hasil aktifitas daya hambat yang cukup baik yaitu penelitian ekstrak panas metanol daun pegagan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan resistensi methicillin *S. aureus* (tipe liar) menunjukkan nilai MIC zona hambat masing-masing 5 mm dan 7 mm (Zaidan *et al.*, 2005). Penelitian lain berkaitan dengan minyak atsiri daun pegagan menunjukkan sifat antibakteri terhadap Gram-positif (*Bacillus subtilis* dan *S. aureus*) dan Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Shigella sonnei*) dengan nilai MIC berkisar antara 1,25 hingga 0,039 mg/ml (Oyedeji and Afolayan, 2005). Penelitian ekstrak etanol 95% sebagai aktifitas antibakteri dengan kadar MIC 16 μ l / ml terhadap *Bacillus cereus* sedangkan 8 μ l / ml untuk *Listeria monocytogenes* 10403S (Pitindhipat. 2015).

Hasil aktifitas daya hambat ekstrak etanol daun pegagan terhadap bakteri

Escherichia coli yang telah diuji secara invitro berbeda kemampuannya apabila dibandingkan dengan kemampuan ekstrak yang lain juga ke bakteri lain, hal ini dimungkinkan terdapat perbedaan

senyawa aktif yang dimilikinya, hasil uji fitokimia atau uji senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan, meliputi saponin, flavonoid dan Tanin. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia pada ekstrak etanol daun Pegagan

Nama Senyawa	Hasil Pengujian	Keterangan
Flavonoid	Positif	Terbentuk warna jingga
Saponin	Positif	Terbentuk buih
Tanin	Positif	Terbentuk warna hijau kehitaman

Selain senyawa aktif yang dihasilkan di atas, Menurut Gershenzon and Dudareva (2007), tanaman pegagan mengandung banyak jenis senyawa aktif yaitu Terpen atau Terpenoid. Beberapa laporan menunjukkan bahwa ekstraksi etanol 95% pegagan menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus cereus* dan *Listeria monocytogenes* di bawah normal, stres osmotik, dan pH rendah (Utami *et al*, 2012). Mamtha *et al*, (2004) juga melaporkan ekstrak etanol pegagan dapat menghambat patogen enterik.

Menurut Djoko (2002), kandungan kimia yang terdapat dalam pegagan

adalah *alkaloid hidrokotilina, glikosida, asiatikosida, saponin, aksiasiantikosid, sentelosa, kerotinoid*, minyak lemak dan minyak atsiri. Sedangkan menurut Jayanti (2005), kandungan kimia pada daun pagagan yang berfungsi sebagai anti bakteri yaitu alkaloid, steroid, saponin dan tannin.

Senyawa saponin merupakan zat senyawa aktif permukaan yang bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Saponin menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri dengan cara berinteraksi dengan

membran sterol. Efek utama saponin terhadap bakteri adalah adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel-sel (Purwatesna, 2012). Saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain lain (Ganiswarna, 1995). Flavonoid bersifat antibiotik dan antibakteri, senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme. Sehingga flavonoid efektif sebagai senyawa antimikroba (Sjahid, 2008). Flavonoid berfungsi sebagai anti bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu membran bakteri (Harbone, 1987). Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang sering ditemukan pada tanaman, seperti daun, buah, kulit kayu dan batang. Tanin merupakan astringen, plifenol, berasa pahit, dapat mengikat dan mengendapkan protein. Tanin

bersifat polar, larut dalam air basa encer, alkohol dan aseton. Umumnya tanin digunakan untuk pengobatan penyakit kulit dan sebagai antibakteri, tetapi tanin juga banyak diaplikasikan untuk pengobatan diare, hemostatik (menghentikan pendarahan) dan wasir. Oleh sebab itu daun yang digunakan adalah daun muda. Karena daun yang masih muda banyak mengandung zat aktif tanin (Purwatesna, 2012).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Pada konsentrasi 30% rerata daya hambat sebesar 5 mm, 40% sebesar 10 mm, 50% sebesar 12 mm, 60% sebesar 16 mm, 70% sebesar 18 mm, 80% sebesar 20 mm, 90% sebesar 22 mm, 100% sebesar 24 mm dan Kontrol Positif sebesar 26 mm.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Pengawasan Obat dan Makanan(BPOM). *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta : BPOM RI. 2004.

- Dalimartha Setiawan. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Jakarta : Puspawarna. 2000.
- Dash, B.K., Faruquee, H.M., Biswas, S.K., Alam, M.K., Sisir, S.M., Prodhan, U.K. Antibacterial and antifungal activities of several extracts of *Centella asiatica* L. against some human pathogenic microbes. *Life. Sci. Med. Res.* 2011: 1-4.
- Departemen Kesehatan RI. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1997.
- Departemen Kesehatan RI. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995.
- Djoko, Santoso. *Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Kulit*. Jakarta : Penebar Swadaya. 2002
- Ganiswarna, S.G. *Farmakologi Dan Terapi*, Jakarta : Gaya Baru. 1995
- Gershenzon, J., Dudareva, N. The function of terpene natural products in the natural world. *Nat Chem Biol.*, 2007. **3**(7): 408-414.
- Harbone, J. B. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : ITB. 1987.
- Idris Farhana Nazira, and Masrina Mohd Nadzir. Antimicrobial Activity of *Centella asiatica* on *Aspergillus niger* and *Bacillus subtilis*. *Chemical Engineering Transactions*, 2017. 56, 1381-1386.
- Irianto, K. *Bakteriologi Medis*. Bandung : Alfabeta. 2014
- Jayanti, H.D. *Analisa Zat Berkhasiat Pegagan*. Padang : FMIPA. 2005
- Kartasapoetra, G. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta : PT Rineka Citra. 2006.
- Mamtha, B., Kavitha, K., Srinivasan, K.K., Shivananda, P.G. An in vitro study of the effect of *Centella asiatica* [Indian pennywort] on enteric pathogens. *Indian J. Pharmacol.* 2004. 36(1): 41-44.
- Nelvita Sari Ramadhan, Roslaili Rasyid, Elmatris S. 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).
- Oyedeji, O. A., Afolayan, A. J. Chemical composition and antibacterial activity of the

- essential oil of *Centella asiatica* growing in South Africa. *Pharm. Biol.*, 2005. 43(3): 249-52.
- Prakash Ved, Nishita Jaiswal, Mrinal Srivastava. A Review On Medicinal Properties Of *Centella Asiatica*. *Asian J Pharm Clin Res*. 2017. 10(10) 69-74.
- Permadi. *Manfaat daun Pegagan*. Jakarta. 2006
- Pitinidhipat, N., Yasurin, P. Antibacterial Activity of *Chrysanthemum indicum*, *Centella asiatica* and *Andrographis paniculata* on *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes* under Osmotic Stress. *AU J. T.*, 2015. 15(4): 239- 245.
- Syahrurachman, dkk.. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*, Jakarta : Bina Rupa Aksara. 1995
- Sjahid, L.R. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru*. 2008.
- Utami, C.V., Pitinidhipat, N., Yasurin, P. Antibacterial Activity of *Chrysanthemum indicum*, *Centella asiatica* and *Andrographis paniculata* on *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes* under Low pH Stress. *KMITL Sci. Tech. J.*, 2012. 12(1): 49-54.
- Winarto, Maria Surbakti. *Khasiat dan Manfaat Pegagan*. Jakarta : Agro Media Pustaka. 2003.
- Zaidan MR, Noor Rain A, Badrul AR, Adlin A, Norazah A, Zakiah I. *In vitro* screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method. *Trop Biomed* 2005;22(2):165-70.