

UJI EFEKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa****Antibacterial Effectiveness Test of Pegagan Leaf Extract (Centella asiatica) On The Growth Of Pseudomonas aeruginosa***

Siti Fatimah¹⁾, Yuliana Prasetyaningsih²⁾, Sita Astuti Carmanyta³⁾
^{1,2,3} Prodi Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Guna Bangsa Yogyakarta

Email :siti.fatimah.gunabangsa@gmail.com
0818259216

Abstrac

Pseudomonas aeruginosa is one of the bacteria that causes infectious diseases. These bacteria show resistance to several types of antibiotics, therefore it is necessary to do alternative treatment using natural ingredients. Pegagan (*Centella asiatica*) leaves contain active substances such as saponins, tannins, alkaloids and flavonoids that function as antibacterial. This study aims to determine the antibacterial effectiveness of pegagan leaf extract (*Centella asiatica*) against the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. This type of research is an experimental study with the disc diffusion method. Pegagan leaves were extracted by maceration method using 70% ethanol as a solvent. The pegagan extract obtained was then diluted using sterile distilled water at concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Positive control used Penicillin G 10 g and negative control used sterile distilled water. The results showed that pegagan leaf extract (*Centella asiatica*) with concentrations of 20%, 40%, 60%, 80% and 100% had an average diameter of inhibition zone against *Pseudomonas aeruginosa* 7,6 mm, 10 mm, 12 mm, 12,6 mm and 16 mm. Positive control (Penicillin G 10 g) of 22 mm and negative control (sterile distilled water) did not inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Pegagan extract at concentrations of 60%, 80% and 100% were effective in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, while concentrations of 20% and 40% were not effective in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Pegagan leaf extract, disc

Abstrak

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit infeksi. Bakteri ini menunjukkan resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik, oleh karena itu perlu dilakukan pengobatan alternatif dengan menggunakan bahan-bahan alami. Daun pegagan (*Centella asiatica*) mengandung zat aktif saponin, tanin, alkaloid dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas antibakteri ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan metode difusi cara cakram. Daun pegagan diekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Ekstrak pegagan yang diperoleh kemudian diencerkan dengan menggunakan aquades steril pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Kontrol positif menggunakan Penisilin G 10 µg dan kontrol negatif menggunakan aquades steril. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*)

dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% memiliki rata-rata diameter zona hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* hambat sebesar 7,6 mm, 10 mm, 12 mm, 12,6 mm dan 16 mm. Kontrol positif (Penisilin G 10 µg) sebesar 22 mm dan kontrol negatif (aquades steril) tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak pegagan pada konsentrasi 60%, 80% dan 100% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, sedangkan konsentrasi 20% dan 40% tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, ekstrak daun pegagan, cakram

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional telah menarik perhatian dan kepopulerannya di masyarakat semakin meningkat. Salah satu penyebabnya adalah masyarakat telah menerima dan membuktikan manfaat dan kegunaan tumbuhan obat dalam pemeliharaan kesehatan. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat tradisional adalah daun pegagan (*Centella asiatica*) (Endamora dan Fernando, 2012).

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat. Salah satu manfaat yang bisa didapatkan dari pegagan (*Centella asiatica*) adalah antibakterinya. Manfaat antibakterinya didapatkan karena pegagan (*Centella asiatica*) mengandung zat antibakteri, diantaranya adalah saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid (Ramadhan, dkk., 2015).

Secara konvensional, pegagan dipakai untuk melancarkan peredaran darah, peluruh kencing (diuretika), penurun panas (anti piretika), menghentikan pendarahan (hemostatika), asma, anti inflamasi, hipotensi, insektisida, anti alergi dan stimulan. Kandungan saponin pada pegagan berfungsi menghambat produksi jaringan bekas luka yang berlebihan (menghambat terjadinya keloid). Pegagan juga bermanfaat untuk meningkatkan sirkulasi darah pada lengan dan kaki, untuk mencegah varises dan salah urat, meningkatkan daya ingat, mental, dan

stamina tubuh, serta untuk menurunkan gejala stres dan depresi (Besung, 2011).

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menimbulkan pus hijau kebiruan. Jika bakteri masuk melalui pungsi lumbal menyebabkan meningitis, dan jika bakteri masuk melalui kateter dan peralatan atau larutan irigasi menyebabkan infeksi saluran kemih. Jika bakteri mencapai saluran napas akan menyebabkan pneumonia nekrotikans (Jawetz, dkk., 2014).

Salah satu karakteristik *Pseudomonas aeruginosa* adalah resisten terhadap antibiotik, beberapa antibiotik baru telah dibuat secara khusus untuk mengatasi *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiotik Anti-*Pseudomonas* yang penting secara klinis adalah aminoglikosida, penisilin spektrum luas, sefalosporin generasi ketiga dan kuinolon (Elliot, dkk., 2013).

Multi Drug Resistant *P.aeruginosa* (MDRPA) adalah kondisi dimana bakteri resisten terhadap tiga atau lebih kelas antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, aminoglikosida, fluorokuinolon, dan lain lain. Dilaporkan kasus MDRPA bervariasi dari 0,6% - 32% menurut berbagai studi penelitian yang diselenggarakan diberbagai daerah. Prevalensi MDRPA meningkat selama dekade terakhir pada pasien yang dirawat di rumah sakit, sehingga menyebabkan sedikitnya pilihan untuk terapinya (Rustini, dkk., 2016). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti melakukan penelitian

bertujuan untuk mengetahui efektifitas antibakteri ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah ose steril, cawan petri, oven, autoclave, inkubator, pinset, lampu spiritus, penggaris, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet steril, erlenmeyer, gelas kimia, kapas lidi steril, masker, sarung tangan, kertas cakram.

Bahan

2,5 cm Bahan yang digunakan adalah daun pegagan yang diperoleh dari area pesawahan Desa Nguwet, Kecamatan Kranggan, Kabupaten Temanggung, Jawa Tengah. Daun yang digunakan adalah daun yang tidak terlalu tua, tidak terlalu muda dan bebas dari hama penyakit, suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, media Muller Hinton Agar, NaCl fisiologis 0,85%, cat gram, aquades steril, antibiotik Penisilin G 10 µg

Prosedur

Pembuatan ekstrak daun pegagan

Simplisia daun pegagan sebanyak 300 gr diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Hasil ekstrak daun pegagan ditimbang didapatkan hasil ekstrak sebanyak 18,20 gr dan selanjutnya dibuat pengenceran

Pembuatan Media Muller Hinton Agar

Ditimbang bahan Muller Hinton Agar sebanyak 7,6 gram dilarutkan dengan 200 ml aquades. Media Muller Hinton Agar dimasukkan ke dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C untuk disterilisasi. Media dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing 20 ml kemudian media disimpan di dalam lemari pendingin

Pembuatan NaCl Fisiologis 0,85%

Ditimbang NaCl sebanyak 0,085 gram dilarutkan dalam 10 ml aquades, pH dibuat menjadi 7,0 dengan menambahkan NaOH 0,1 N atau HCL 0,1 lalu disterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm.

Persiapan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

a). Pengecatan gram

Diambil 3 ose biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan difiksasi di atas nyala api spiritus. Dilakukan pewarnaan gram, kemudian preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

b). Suspensi Bakteri

Diambil satu ose koloni biakan murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada natrium agar dan disuspensikan dengan NaCl fisiologis 0,85% sebanyak 5 ml kemudian dikocok sampai keruh selama 1-3 menit, dibandingkan dengan larutan standar kuman 10⁸/CFU (standar Mc Farland).

Pengenceran ekstrak daun pegagan

Ekstrak daun pegagan dengan konsentrasi 100% diencerkan dengan aquadest steril untuk mendapatkan larutan daun pegagan dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Berikut adalah pengenceran ekstrak daun pegagan dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1. Pengenceran Ekstrak Daun Pegagan

Ekstrak Daun Pegagan (ml)	Aquade st Steril (ml)	Volume (ml)	konsentrasi
1	0	1	100%
0,8	0,2	1	80%
0,6	0,4	1	60%
0,4	0,6	1	40%
0,2	0,8	1	20%

Persiapan kertas cakram

Kertas cakram disk blank dicelupkan pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun pegagan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dan kontrol negatif aquadest.

Penanaman bakteri

Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu digoreskan pada permukaan muller hinton agar hingga rata, kemudian kertas cakram yang sudah disiapkan diletakkan pada permukaan media muller hinton agar. Uji antibakteri ini dilakukan dengan menggunakan kontrol negatif aquadest steril dan kontrol positif Penisilin G 10 µg.

Inkubasi

Media MHA yang sudah ditanami bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan diberi berbagai konsentrasi ekstrak daun pegagan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

Pembacaan hasil

Pembacaan hasil dilakukan dengan mengukur diameter zona jernih di sekitar kertas cakram menggunakan penggarisberskalamm.

Analisa Data

Tingkat efektifitas antibakteri ekstrak pegagan dengan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dapat ditentukan dengan mengukur presentase (%) daya hambat menggunakan persamaan Oroh, dkk., (2015):

$$E = (D/Da) \times 100$$

Dimana

E: Efektivitas antibakteri (%),

D: Diameter zona hambat ekstrak daun pegagan (mm).

Da: Diameter zona hambat antibiotika (mm). Menurut Oroh, dkk., (2015).

Efektifitas antibakteri dikelompokkan ke dalam 2 kelompok, yakni tidak efektif dan efektif, dapat dilihat pada tabel 2

Tabel 2. Pengelompokan efektivitas antibakteri menurut Oroh, dkk (2015)

No	Persentase	Efektifitas
1	<50%	Tidak efektif
2	≥50%	efektif

HASIL DAN PEMBAHASAN

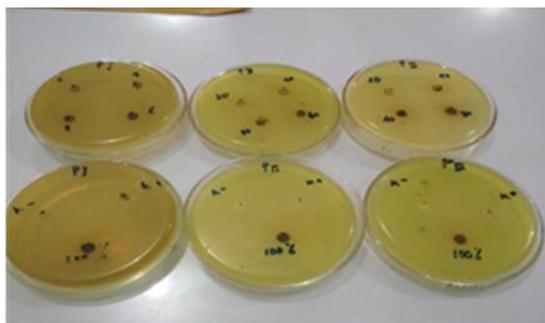
Penelitian ini menggunakan daun pegagan (*Centella asiatica*) yang diperoleh dari area pesawahan Desa Nguwet, Kecamatan Kranggan, Kabupaten Temanggung, Jawa Tengah. Daun yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun yang tidak terlalu tua dan bebas dari hama penyakit. Peneliti menggunakan daun pegagan karena daun pegagan mengandung senyawa antibakteri yaitu flavonoid, tanin, dan saponin. Daun Pegagan diekstrak dengan etanol 70 % sebagai pelarut karena etanol adalah pelarut yang mudah melarutkan senyawa-senyawa organik yang ada pada simplisia, selain itu etanol juga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang mengakibatkan rusaknya kandungan simplisia (Dwitiyanti, dkk., 2015).

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Hanani, 2015). Metode yang digunakan untuk pembuatan ekstrak yaitu metode maserasi. Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu ruangan dan penggantian pelarut secara berulang. Metode maserasi dipilih dengan tujuan agar menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang terdapat di dalam simplisia akibat pemanasan.

Pada penelitian ini digunakan media Muller Hinton Agar (MHA) karena pada media MHA semua bakteri dapat tumbuh karena media ini bukan merupakan media selektif dan media diferensial serta mengandung *starch* (tepung pati) yang berfungsi menyerap racun yang dikeluarkan bakteri, sehingga tidak mengganggu antibiotik (Atmojo, 2016). Kontrol negatif sekaligus pengencer yang digunakan adalah aquadest steril karena bersifat polar dan tingkat kelarutannya tinggi. Aquadest steril digunakan sebagai kontrol negatif dengan tujuan untuk membuktikan pelarut ekstrak daun pegagan tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Kontrol positif yang digunakan adalah Penisilin G 10 µg karena Penisilin G merupakan antibiotik bersifat bakterisidal yang aktivitasnya termasuk banyak gram positif dan negatif aerob, beberapa gram positif anaerob dan spirokaeta.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun pegagan dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram kertas, dimana metode ini memiliki kelebihan yaitu cepat, mudah dan murah karena tidak memerlukan alat khusus. Tujuan dilakukan uji aktivitas antibakteri adalah untuk melihat kemampuan dari ekstrak daun pegagan untuk menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil zona hambat ekstrak daun pegagan pada muller hinton agar dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil Zona Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol negatif dan kontrol positif.

Pembacaan hasil pada metode difusi dengan mengukur adanya zona hambat. Hasil uji daya hambat ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) yang telah dilakukan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Rata-rata Diameter Zona Jernih Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

No	Konsentrasi Ekstrak daun pegagan (%)	Zona hambat (mm)			Jumlah (mm)	Rata-rata (mm)
		A	B	C		
1	20%	8	7	8	23	7,6
2	40%	10	10	10	30	10
3	60%	12	12	12	36	12
4	80%	13	12	13	38	12,6
5	100%	16	16	16	48	16
6	Kontrol positif	22	22	22	22	22
7	Kontrol negatif	0	0	0	0	0

Tabel 3 menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan terbentuknya zona jernih. Perbedaan zona hambat yang terbentuk dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi pada ekstrak daun pegagan maka semakin luas pula zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang terbentuk. Rata-rata zona hambat yang paling tinggi adalah 16 mm pada konsentrasi 100% sedangkan

rata-rata zona paling rendah hambat adalah 8 mm pada konsentrasi 20%.

Perbedaan besarnya zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi dapat diakibatkan karena adanya perbedaan besar kecilnya konsentrasi atau banyak sedikitnya kandungan zat aktif berupa flavonoid, tanin dan saponin serta kekeruhan suspensi bakteri. Mekanisme senyawa flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktivasi metabolisme sel bakteri berhenti. Saponin mempunyai efek antibakteri dengan bekerja merusak membran sitoplasma, kemungkinan saponin mempunyai efek sinergis dengan tanin dalam merusak permeabilitas sel bakteri.

Tabel 4. Standar Zona Hambat Antibiotik Penisilin G Menurut NCCLS

Jenis antibiotik	Konsentrasi cakram antibiotik	Diameter Zona Hambat (mm)		
		Resi sten	Intermediet	Sensitif
Penisilin G	10 µg	11	12-21	22

Sumber : NCCLS dalam Febriani, 2013.

Berdasarkan Tabel 3. Diketahui bahwa antibiotik Penisilin G sebagai kontrol positif termasuk dalam kategori sensitif terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat 22 mm. Zona jernih yang terbentuk menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sensitif terhadap Penisilin G menurut *National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) dalam Febriani (2013)*. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dikatakan resisten terhadap antibiotik jika zona jernih yang terbentuk 11 mm, intermediet 12-21 mm dan dikatakan sensitif jika zona jernih yang terbentuk 22 mm. Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) mempunyai kemampuan dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, hanya saja sensitivitas Penisilin G lebih baik dan masih lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* jika dibandingkan dengan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*).

Kategori daya hambat ditinjau dari diameter zona hambat menurut Stout dalam Menon dan Satria (2015) digolongkan dalam 4 kategori seperti yang tersaji dalam tabel 5.

Tabel 5. Kategori daya hambat ditinjau dari diameter zona hambat

Diameter	Respon Hambatan Pertumbuhan
<5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
>21 mm	Sangat kuat

Sumber : Stout dalam Menon dan Satria, 2015.

Berdasarkan kategori respon hambatan pertumbuhan pada berbagai konsentrasi ekstrak daun pegagan perbandingan hasil uji daya hambat konsentrasi ekstrak daun pegagan dalam menentukan kekuatan zat antibakteri yang terkandung dalam daun pegagan. Berdasarkan uji daya hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam beragam konsentrasi disajikan dalam tabel 6

Tabel 6. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Berdasarkan Kategori Respon Hambatan Pertumbuhan.

Konsentrasi (%)	Diameter (mm)	Kategori respon hambat pertumbuhan
20%	7,6	Sedang
40%	10	Sedang
60%	12	Kuat
80%	12,6	Kuat
100%	16	kuat

Berdasarkan Tabel 6. diketahui bahwa kategori respon hambat pertumbuhan pada berbagai konsentrasi ekstrak daun pegagan yaitu pada konsentrasi 20% dan 40% dengan diameter masing-masing sebesar 7,6 mm dan 10 mm konsentrasi 60%, 80% dan 100% dengan diameter masing-masing sebesar 12 mm, 12,6 mm dan 16 mm termasuk dalam kategori kuat.

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bahwa ekstrak daun pegagan mampu menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* karena terdapat kandungan antibakteri yaitu flavonoid, tanin dan saponin ditunjukkan dengan adanya zona hambat disekitar kertas cakram pada media Muller Hinton Agar.

Uji efektivitas antibakteri dengan mengukur presentase (%) daya hambat menggunakan persamaan Tangap dalam Oroh, dkk., (2015) Hasil persentase terdapat pada tabel 7

No	Konsentrasi Ekstrak daun pegagan (%)	Rata-rata (mm)	Presentase Efektivitas (%)	Kategori Efektivitas
1	20%	7,6	34,55	Tidak efektif
2	40%	10	45,45	Tidak efektif
3	60%	12	54,55	efektif
4	80%	12,6	57,27	efektif
5	100%	16	72,73	efektif
6	Kontrol positif	22		
7	Kontrol negatif	0		

Tabel 7. Hasil Perhitungan Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Efektivitas antibakteri ekstrak daun pegagan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terlihat bahwa konsentrasi ekstrak daun pegagan dengan konsentrasi

20% dan 40% masuk dalam kategori tidak efektif dan pada konsentrasi 60 %, 80% dan 100% masuk dalam kategori efektif. Penisilin G sebagai kontrol positif memiliki zona bening dan masuk kategori sangat kuat dan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* *Propionibacterium acnes*.

Dengan adanya penelitian ini dapat membantu dan memberi informasi bagi masyarakat bahwa ekstrak daun pegagan dapat digunakan sebagai obat alternatif terhadap penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penggunaan obat herbal tidak akan memberikan efek samping dalam jangka waktu yang lama.

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) dengan konsentrasi 60%, 80% dan 100% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sedangkan ekstrak daun Pegagan (*Centella asiatica*) dengan konsentrasi 20% dan 40 % tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri

SARAN

- 1.Perlu dilakukan penelitian dengan metode yang berbeda seperti metode dilusi.
- 2.Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara in vivo

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada STIKES Guna Bangsa Yogyakarta yang telah memberi dukungan terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Atmojo AT, 2016. Media Muller Hinton Agar. <https://medlab.id/media-mueller-hinton-agar/>. Diakses pada 27 September 2021
2. Besung INK. 2011. Pengaruh Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) dalam Meningkatkan Kapasitas Fagosit Makrofag Peritoneum Mencit Terhadap *Salmonella Typhi*. *Buletin Veteriner Udayana*. Vol. 3 No. 2. Februari 2011: 71-78.
3. Dwitiyanti, Sediarmo, Kusuma AA, 2015. Pengaruh Pemberian Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol 70% Herba Pegagan Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Tikus Putih Jantan. *Jurnal Media Farmasi*. Vol 12 No. 2. September 2015 : 183.
4. Elliot T, Worthington T, Osman H, Gill M. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran & Infeksi*. EGC, Jakarta: 62.
5. Endamora dan Fernando A, 2012. Optimasi Ekstraksi Triterpenoid Total Pegagan (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) yang Tumbuh di Riau". *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. Vol. 1, No. 1. September 2012: 11.
6. Febriani TA. 2013. Uji Sensitivitas Antibiotika Terhadap Bakteri Penyebab Diare Di Puskesmas Mangasa Kota Makasar. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makasar.
7. Hanani E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 10-13.
8. Jawetz, ESL., Melnick, EA., Adelberg, GF., Brooks, JS., Butel., Ornston, LN., 2014. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. EGC, Jakarta: 239- 242.
9. Menon S, Satria A. 2015. Mengkaji Aktivitas Antibakteri *Nasturtium officinale* dan Ekstrak Etanol *Pilea melastomoides* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Farmaka*. Juli 2016: 68.
10. Oroh, S.B., Kandou, F.E.F., Pelealu, J., dan Pandiangan, D. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Selaginelladelicatula dan Diplazium dilatatum Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Biologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Manado.
11. Ramadhan NS, Rasyid R, Elmatris SY, 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) yang Diambil di Batusangkar terhadap Pertumbuhan Kuman *Vibrio cholerae* Secara In Vitro. *Jurnal kesehatan Andalas*, Vol. 4 No. 1, April 2015: 202-203.
12. Rustini, Istiqamah S, dan Armin F, 2016. Penentuan Multi Drug Resisten *Pseudomonas aeruginosa* (MDRPA) yang Berasal dari Sampel Klinis Pasien RSUP Dr. M. Djamil Padang. Prosiding Rakernas dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia, 2016: 87- 88.