

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT BIJI TERATAI (*Nymphaea pubescens* Willd) AKIBAT PEMANASAN

*The Effect of Heating Temperature on Antibacterial Activity of Water Lily (*Nymphaea pubescens* Willd) Seed Ethyl Acetate Extract*

Yuspihana Fitrial

Fakultas Perikanan Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin 70123

Korespondensi: Jl. A. Yani Km. 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70714 email: yuspis@yahoo.com

Abstract

The purposes of this study were to evaluate the influence of heating temperature, 100 °C and 121 °C (the autoclave temperature) on antibacterial activity and stability of water lily seed ethyl acetate extract. Research was initiated with water lily seed extract using multistage maceration extraction method based on solvent polarity level. Extraction stages beginning with a solvent hexane (non polar), then with ethyl acetate (semi-polar) so that the obtained ethyl acetate extract. In ethyl acetate extracts were subjected to heating at 100 °C and 121 °C. Each extract that has been treated, tested for antibacterial activity with tested bacteria *E. coli* and *S. Typhimurium* by using agar well diffusion method. Observations on the stability of fractions contained in the ethyl acetate extract from the treatment given, performed by using TLC (Thin Layer Chromatographi) with a mobile phase of hexane and ethyl acetate (7:3). The activities of each fraction were tested quantitatively by agar well diffusion method. Based on the results of these studies showed that heating affect the antibacterial activity of ethyl acetate extracts. The higher the temperature, decreased antibacterial activity, however at a temperature of 121 °C, ethyl acetate extracts still have antibacterial activity. The process of heating effect on the stability of the ethyl acetate extract fractions. The fractions that too act as an antibacterial were 5 and 6 that relatively more polar than the fraction of 7,8,9,10 and 11. The both fractions was not stable against heating temperature of 100 °C and 121 °C.

Key words: antibacterial, ethyl acetate extract, fraction, temperature

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh pemanasan suhu 100 °C dan suhu autoklaf 121 °C terhadap aktivitas antibakteri dan kestabilan dari ekstrak etil asetat biji teratai. Tahapan ekstraksi diawali dengan menggunakan pelarut heksana (tidak polar), selanjutnya dengan etil asetat (semi polar). Ekstrak etil asetat diberi perlakuan pemanasan pada suhu 100 °C, 121 °C dengan autoklaf. Ekstrak yang telah diberi perlakuan, diuji aktivitas antibakteri dengan bakteri uji *Escherichia coli* dan *S. typhimurium* dengan menggunakan metode difusi agar. Kestabilan fraksi-fraksi yang terdapat pada ekstrak etil asetat akibat perlakuan yang diberikan diuji dengan TLC (*Thin Layer Chromatographi*) dengan fase gerak heksana dan etil asetat (7:3). Proses pemanasan berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri. Semakin tinggi suhu maka aktivitas antibakteri semakin menurun, meskipun pada suhu 121 °C masih memiliki aktivitas antibakteri. Proses pemanasan berpengaruh terhadap kestabilan fraksi ekstrak etil asetat biji teratai. Fraksi dari ekstrak etil asetat yang berperan sebagai antibakteri diantaranya adalah fraksi 5 dan 6 yang relatif lebih polar dibandingkan fraksi 7,8,9,10 dan 11 dan kedua fraksi ini relatif tidak stabil terhadap pemanasan suhu 100 °C dan 121 °C.

Kata kunci : antibakteri, ekstrak etil asetat, fraksi, suhu

PENDAHULUAN

Teratai merupakan tanaman air yang banyak tumbuh secara alami di perairan rawa dan sungai yang tidak begitu dalam dan berair tenang. Bagian tanaman teratai yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan adalah bunga, biji, batang dan umbinya, Penduduk, di daerah Hulu Sungai Utara

lebih banyak memanfaatkan bijinya.

Biji buah teratai oleh penduduk setempat dijadikan tepung untuk membuat kue atau dijadikan sebagai sumber karbohidrat pengganti beras saat paceklik. Berdasarkan hasil penelitian Khairina dan Fitrial (2002) diperoleh hasil bahwa dari setiap rumpun teratai rata-rata terdapat 5,3 buah teratai

tua yang menghasilkan 63,10 gram biji teratai kering. Biji teratai kering inilah yang kemudian dikupas kulitnya dan dijual di pasar. Luas rawa di Kalimantan Selatan sangat memungkinkan biji teratai dijual di pasar tradisional dengan harga yang hampir sama dengan beras.

Biji teratai merupakan sumber karbohidrat (88,36% bk), kadar proteinnya relatif tinggi (10,39% bk) dan asam amino esensial yang lengkap, kadar lemaknya rendah (0,58% bk) dengan asam lemak utamanya adalah linoleat dan stearat, selain itu kadar seratnya yang cukup tinggi (7,98% bk) merupakan sumber serat yang baik (Fitrial *et al.* 2008). Biji teratai diketahui memiliki khasiat meningkatkan fungsi hati dan limfa, memperbaiki stamina, membuat awet muda dan menyembuhkan diare dan disentri.

Biji teratai memiliki aktivitas antidiare secara *in vitro* (Fitrial *et al.* 2008). Komponen fitokimia yang terdapat pada biji teratai adalah alkaloid, flavonoid, steroid, glikosida, saponin, tanin dan triterpenoid. Ekstrak etil asetat, merupakan ekstrak yang paling tinggi aktivitas antibakterinya dibandingkan ekstrak heksana dan etanol, mengandung alkaloid, glikosida, tanin, flavonoid, saponin dan triterpenoid, (Fitrial *et al.* 2008). Ekstrak etil asetat biji teratai tersebut tidak menghambat pertumbuhan bakteri menguntungkan yaitu *Lactobacillus* sp. dan *Bifidobacterium bifidum*.

Bahan pangan yang mengandung komponen fitokimia dan memiliki aktivitas antimikroba dikonsumsi dalam kondisi sudah dimasak, tetapi kondisi proses pengolahan mempengaruhi aktivitas antimikroba dari beberapa senyawa aktif. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi perubahan aktivitas setelah melalui proses pengolahan. Menurut Yuan *et al.* (2009) kecuali pengukusan, metode pemasakan seperti microwave, perebusan, penggorengan dan penggorengan yang disertai dengan perebusan berpengaruh terhadap komponen aktif yang terdapat pada brokoli (klorofil, protein terlarut, gula terlarut, vitamin C dan glukosinolat). Bumbu gulai yang merupakan campuran beberapa bahan yang diketahui memiliki aktivitas antimikroba

yaitu bawang merah, bawang putih, lengkuas, jahe, kunyit, cabe merah, ketumbar, serai, adas, jinten, cengkeh, kayumanis, kapulaga, aktivitas antimikrobanya mengalami penurunan terhadap total mikroba, *B. cereus* setelah diberi perlakuan pendidihan dan otoklaf dan semakin tinggi suhu serta lamanya waktu pemanasan dibandingkan bumbu segarnya (Rahayu dan Raharjanti 2000). tetapi terhadap *S. aureus* aktivitasnya justru meningkat.

Beberapa bahan aktif dari beberapa ekstrak tumbuhan yang terbukti memiliki aktivitas antimikroba tidak mengalami penurunan aktivitas akibat proses pemanasan yaitu ekstrak etil asetat kecombrang terhadap pemanasan suhu 80 dan 100 °C dan 121 °C (terhadap *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Aeromonas hydrophila*) (Naufalin *et al.* 2006), ekstrak kloroform (yang mengandung tanin, saponin, alkaloid, flavonoid dan sesquiterpen) dari tumbuhan polygonaceae yang dipanaskan pada suhu 4, 30, 60 dan 100 °C (Salama dan Marraiki 2010), ekstrak aseton dan etanol *Tamarindus indica* yang mengandung tanin, saponin, sesquiterpene, alkaloid, dan phlobatamin yang dipanaskan pada suhu 4 °C, 30 °C, 60 °C dan 100 °C (terhadap *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella paratyphi*, dan *Salmonella typhi*) (Doughari 2006), demikian pula pada ekstrak air dari daging buah *T. indica* terhadap *S. typhimurium* (Jadhav *et al.* 2010).

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi aktivitas antimikroba selama proses pengolahan bahan pangan adalah adanya udara, suhu, komposisi pangan, waktu pengolahan (Chipurura dan Muchuweti 2010). Tujuan penelitian adalah menentukan pengaruh pemanasan terhadap kestabilan fraksi etil asetat biji teratai yang telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri.

MATERIAL DAN METODE

Bahan dan Alat

Biji teratai dari jenis *Nymphae pubescens* Willd diperoleh dari daerah Hulu Sungai Utara, Kalimantan Selatan. Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi biji teratai dan fraksinasi ekstrak

adalah heksana dan etil asetat. Fraksinasi ekstrak menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) kaca (Kieselgel 60 F254 0.2 mm, Merck).

Mikroba uji adalah *E. coli* (FNCC-091) dan *S. typhimurium* (FNCC-050) koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan *Nutrient Broth* dan *Nutrient Agar*.

Metode Penelitian

Ekstraksi Komponen Antibakteri Biji Teratai

Ekstraksi komponen antibakteri secara maserasi menggunakan metode ekstraksi bertingkat berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yaitu heksana (tidak polar), etil asetat (semi polar). Pertama-tama biji teratai dalam bentuk tepung dimaserasi pada suhu ruang selama 24 jam dengan heksana, dengan perbandingan tepung biji teratai dengan pelarut 1 : 4 (b/v). Ekstraksi dengan pelarut yang sama diulang lagi dengan perbandingan bahan dan pelarut sama dengan yang pertama. Filtrat diambil sebagai ekstrak heksana dan endapan dimaserasi dengan etil asetat selama 24 jam. Filtrat diambil sebagai ekstrak etil asetat, sedangkan endapan dimaserasi lagi dengan etanol selama 24 jam dan filtratnya diambil sebagai ekstrak etanol. Pelarut diuapkan dengan rotavapor pada suhu 40 °C, sisa pelarut diuapkan dengan gas nitrogen. Ekstrak yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk analisis dan pengujian antibakteri.

Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Teratai

Perlakuan yang diberikan pada ekstrak etil asetat yaitu ekstrak etil asetat dipanaskan di dalam penangas air pada suhu 100 °C dan ekstrak dipanaskan di dalam autoklaf suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan analisis aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat biji teratai tersebut dengan menggunakan metode difusi agar atau sumur (Gariga *et al.* 1983) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. typhimurium*. Metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa anti bakteri di dalam ekstrak yang diuji untuk menghasilkan zona penghambatan terhadap bakteri uji, berupa diameter zona hambat (d, mm).

Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat Biji Teratai

Fraksinasi ekstrak etil asetat setelah mengalami pemanasan dilakukan untuk mengetahui kestabilan masing-masing fraksi dari ekstrak etil asetat dibandingkan dengan kontrol (tanpa dipanaskan). Fraksinasi menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) kaca (Kieselgel 60 F254 0,2 mm, Merck). Yang digunakan sebagai fase gerak adalah heksana dan etil asetat dengan perbandingan 7:3. Komponen-komponen yang terpisah dilihat dengan menggunakan sinar ultra violet (254 dan 360 nm).

Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Etil Asetat

Pengujian secara kuantitatif terhadap aktivitas masing-masing fraksi dilakukan dengan mengerok spot-spot fraksi pada KLT, kemudian dimaserasi dengan pelarut etil asetat dan diambil filtratnya dengan cara sentrifugasi. Filtrat diuapkan pelarutnya dengan N₂ dan diperoleh fraksi-fraksi ekstrak etil asetat biji teratai. Fraksi-fraksi tersebut diuji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan difusi agar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Ekstrak Etil Asetat Biji Teratai

Fraksinasi ekstrak etil asetat biji teratai dengan menggunakan eluen heksana : etil asetat (7:3) diperoleh 11 fraksi. Masing-masing fraksi yang terpisah tersebut diuji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan bakteri uji *E.coli* dan *S. typhimurium*. Pengujian aktivitas fraksi ekstrak etil asetat biji teratai dilakukan dengan membandingkan antara ekstrak dengan fraksi ekstrak dengan konsentrasi yang sama dalam hal ini adalah 2% (b/v). Hasil pengujian dengan menggunakan difusi agar disajikan pada Tabel 1.

Semua fraksi mempunyai aktivitas antibakteri, namun pada fraksi 1 tidak terlihat adanya penghambatan terhadap *S. typhimurium*. Fraksi 10 dan 11 terlihat memiliki aktivitas penghambatan yang paling besar terhadap *E. coli*. Berdasarkan pengembang (eluen) yang digunakan yaitu heksana dan etil asetat (7:3) menunjukkan semakin besar nomor fraksi maka fraksi tersebut semakin

Tabel 1 Diameter penghambatan (mm) dari ekstrak etil asetat biji teratai (2%) dan fraksi-fraksinya (2%) terhadap *E.coli* dan *S. Typhimurium*

Ekstrak biji teratai	Diameter penghambatan (mm)	
	<i>E.coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
Ekstrak etil asetat	14,98	14,00
Fraksi 1	5,13	Tidak ada
Fraksi 2	2,15	7,78
Fraksi 3	6,85	6,22
Fraksi 4	5,70	2,98
Fraksi 5	4,48	4,93
Fraksi 6	7,95	8,15
Fraksi 7	7,33	2,00
Fraksi 8	7,18	3,98
Fraksi 9	7,38	3,20
Fraksi 10	10,60	3,30
Fraksi 11	11,65	2,35

tidak polar (penomoran fraksi dimulai dari awal laju eluen pada KLT), hal ini menunjukkan bahwa fraksi yang lebih tidak polar pada ekstrak etil asetat biji teratai memiliki aktivitas penghambatan yang lebih besar terhadap *E.coli*, sebaliknya terhadap *S. typhimurium*, fraksi yang lebih rendah (yang lebih polar) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar. Aktivitas masing-masing fraksi dari ekstrak etil asetat biji teratai terhadap *S. typhimurium* terlihat lebih rendah dibandingkan terhadap *E. coli*, hanya fraksi 2,3 dan 6 mempunyai aktivitas yang lebih besar terhadap *S. typhimurium*.

Pengaruh Pemanasan terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Teratai

Pengaruh pemanasan pada suhu 100 °C dan 121 °C terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat yaitu terhadap pertumbuhan *E.coli* dan *S. typhimurium* menggunakan metode difusi agar disajikan pada Tabel 2.

Pemanasan ekstrak etil asetat pada suhu 100 °C dan 121 °C berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri yaitu terhadap *E.coli* dan *S. typhimurium*. Penurunan aktivitas antibakteri terjadi terutama pada suhu 121 °C atau suhu pada penggunaan otoklaf dengan suhu tinggi

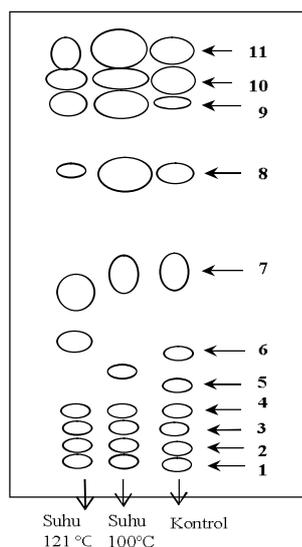
dan tekanan tinggi, meskipun demikian ekstrak tersebut masih memiliki aktivitas antibakteri, yang menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat biji teratai relatif stabil terhadap pemanasan. Hasil penelitian Naufalin *et al* (2006) menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu pemanasan (80 °C, 100 °C dan 121 °C), aktivitas ekstrak etanol bunga kecombrang semakin menurun terhadap bakteri uji *E.coli*, *S. typhimurium* dan *Bacillus cereus*.

Pengaruh Pemanasan terhadap Kestabilan Fraksi Ekstrak Etil Asetat Biji Teratai

Pengujian pengaruh pemanasan terhadap kestabilan masing-masing fraksi ekstrak etil asetat biji teratai disajikan pada Gambar 1. Ekstrak etil asetat tanpa dipanaskan menunjukkan ada 11 fraksi yang terdapat pada ekstrak. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dengan menggunakan metode bioautografi diketahui bahwa semua fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji (Fitrial *et al.* 2008). Fraksi 5 dan 6 tidak muncul, tetapi terlihat ada satu fraksi diantara fraksi 5 dan 6 setelah mengalami pemanasan pada suhu 100 °C, yang menunjukkan fraksi 5 dan atau 6 tidak stabil terhadap suhu 100 °C dan membentuk senyawa lain. Berdasarkan Tabel 2 terlihat terjadi penurunan aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat biji teratai yang dipanaskan pada suhu 100 °C. Penurunan aktivitas tersebut diduga akibat hilangnya fraksi 5 dan 6 yang mempunyai aktivitas antibakteri dan terbentuknya satu senyawa lain yang tidak memiliki aktivitas antibakteri. Pacheco-Palencia *et al.* (2009) mempelajari pengaruh pemanasan terhadap kestabilan komponen polifenol pada buah acai, *Euterpa oleracea* Mart dan *Euterpa precatoria* Mart. yang diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Polifenol jenis antosianin tidak stabil terhadap panas, sebaliknya polifenol non-antosianin yaitu asam fenolik dan flavonoid lebih stabil terhadap panas. Perubahan stabilitas polifenol mengakibatkan menurunnya aktivitas

Tabel 2 Pengaruh pemanasan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji teratai

Bakteri uji	Nilai Diameter Sumur (mm)		
	Kontrol	Suhu 100°C	Suhu 121°C
<i>E.coli</i>	23,42±0,67	18,38±0,11	14,20±0,18
<i>S. Typhimurium</i>	22,78±0,78	21,37±0,25	12,62±0,25



Gambar 1 Pengaruh pemanasan terhadap fraksi ekstrak etil asetat biji teratai

antioksidan dari buah *Euterpa oleracea* Mart dan *Euterpa precatorea*.

Berdasarkan fase gerak yang digunakan yaitu campuran heksana dan etil asetat (7:3), menunjukkan bahwa fraksi 5 dan 6 bersifat relatif lebih polar dibandingkan fraksi 6,7,8,9,10 dan 11. Fraksi 1,2,3,4,7,8,9,10 dan 11 terlihat relatif stabil terhadap pemanasan suhu 100 °C.

Fraksi 5 dan 6 tidak ada pada perlakuan pemanasan suhu 121 °C, tetapi muncul fraksi lain diantara fraksi 6 dan 7 yang sifatnya relatif lebih tidak polar dibandingkan fraksi 5 dan 6. Fraksi 7, posisinya juga mengalami perubahan sedikit lebih ke bawah, antara fraksi 6 dan 7 dibandingkan dengan kontrol. Fraksi 1,2,3,4,8,9,10, dan 11 terlihat tidak terpengaruh terhadap pemanasan suhu 121 °C. Hilangnya fraksi 5 dan 6 tersebut diduga menyebabkan menurunnya aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat biji teratai. Fraksi-fraksi yang lain terlihat relatif stabil terhadap pemanasan suhu 121 °C. Fraksi 5 dan 6 memiliki aktivitas antibakteri dan jika kedua fraksi tersebut hilang atau berubah menjadi senyawa lain akibat pemanasan, mengakibatkan aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat biji teratai menjadi berkurang. Hasil penelitian Ijeh *et al* (2010) menunjukkan bahwa biji buah *Treculia africana* yang direbus dan dikeringkan mengalami penurunan komponen alkaloid, fenol,

tanin, flavonoid, oksalat dan saponin. Proses pemanggangan juga menurunkan senyawa-senyawa tersebut, kecuali alkaloid.

KESIMPULAN

Proses pemanasan berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat biji teratai, semakin tinggi suhu maka aktivitas antibakteri semakin menurun, meskipun demikian pada suhu 121 °C ekstrak etil asetat biji teratai masih memiliki aktivitas antibakteri. Proses pemanasan berpengaruh terhadap kestabilan fraksi ekstrak etil asetat biji teratai. Fraksi dari ekstrak etil asetat yang berperan sebagai antibakteri diantaranya adalah fraksi 5 dan 6 yang relatif lebih polar dibandingkan fraksi 7,8,9,10 dan 11 dan kedua fraksi ini relatif tidak stabil terhadap pemanasan suhu 100 °C dan 121 °C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiaya oleh DIPA PNBPN Unlam, oleh karena itu ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Rektor Universitas Lambung Mangkurat melalui Lembaga Penelitian Unlam, atas bantuan dana yang telah diberikan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Chipurura B, Muchuweti M. 2010. Effect of irradiation and high pressure processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of vegetables. *Asian Journal of Clinical Nutrition* 2(4):190-199
- Doughari JH. 2006. Antimicrobial Activity of *Tamarindus indica* Linn. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 5 (2): 597-603
- Fitrial Y, Astawan M, Soekarto ST, Wiryawan KG, Wresdiyati T dan Khairina R. 2008. Potensi biji teratai sebagai antidiare. *Jurnal Teknologi & Industri Pangan* 19(2): 158-164
- Gariga M, Hugas M, Aymerich T, Monfort JM. 1983. Bacteriogenic activity of lactobacilli from fermented sausage. *Applied Bacteriol.* 75:142-148
- Houghton PJ, Raman A. 1998. *Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extracts*. London: Chapman & Hall.
- Ijeh II, Ejike CE, Nkwonta OM, Njoku BC. 2010. Effect of traditional processing techniques on the nutritional and phytochemical composition of african bread-fruit (*Treculia africana*) seeds. *J. Appl. Sci. Environ. Manage* 14 (4):169-173
- Jadhav DY, Sahoo AK, Ghosh JS, Ranveer RC, Mali

- AM. 2010. Phytochemical detection and *in vitro* evaluation of Tamarind fruit pulp for potential antimicrobial activity. *International Journal of Tropical Medicine* 5(3): 68-72
- Khairina, R., Fitrial, Y. 2002. Produksi dan Kandungan Gizi Biji Teratai (*Nymphae pubescens* Wild) Tanaman Air yang terdapat di Hulu Sungai Utara. *Jurnal Ilmiah Fakultas Pertanian*, UNLAM. 77-88
- Naufalin R, Jenie BSL, Kusnandar F, Sudarwanto M, Rukmini HS. 2006. Pengaruh pH, NaCl dan pemanasan terhadap stabilitas antibakteri bunga kecombrang dan aplikasinya pada daging sapi giling. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 17(3): 197-203
- Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. 2009. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chemistry* 115(4): 1199-1205.
- Rahayu WP, Raharjanti DS. 2000. Kajian Pengaruh Pemanasan Terhadap Aktivitas Antimikroba Bumbu Gulai. *Buletin Teknologi. dan Industri Pangan* 11(1): 24-29
- Salama HMH, Marraiki N. 2010. Antimicrobial activity and phytochemical analyses of *Polygonum aviculare* L.(Polygonaceae), naturally growing in Egypt. *Saudi Journal of Biological Sciences* 17: 57-63
- Yuan G, Sun B, Yuan J, Wang Q. 2009. Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. *Journal Zhejiang Univ Science B* 10(8):580-588