



Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* in-vitro

Phytochemical testing and antibacterial activity of binahong leaves (Anredera cordifolia) against Vibrio alginolyticus bacteria in-vitro

Fransiska Seran¹, Yudiana Jasmanindar², Yuliana Salosso³

¹Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Nusa Cendana

^{2,3}Dosen Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Nusa Cendana

Fakultas Kelautan dan Perikanan, Jl. Adisucipto, Penfui 85001,

Kotak Pos 1212, Tlp (0380) 881589

*isfransiskaseran@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) pada bahan pelarut dan konsentrasi yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus* secara *In-Vitro*. Bahan uji berupa ekstrak air daun binahong dan ekstrak metanol daun binahong yang diencerkan menggunakan akuades steril dengan konsentrasi 0,1%, 1% dan 10%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air daun binahong dan ekstrak metanol daun binahong pada konsentrasi 0,1%, 1% dan 10% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. zona hambat tertinggi terdapat pada ekstrak air daun binahong konsentrasi 10% yaitu 19 mm, sedangkan pada ekstrak metanol konsentrasi 10% yaitu 16,33 mm. Hal ini dikarenakan kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak air daun binahong lebih banyak dibandingkan ekstrak metanol daun binahong. Selain itu zona hambat yang terbentuk akan semakin meningkat seiring meningkatnya konsentrasi bahan antibakteri yang diberikan.

Kata Kunci: *Aeromonas hydrophilla*, antibakteri, ekstrak daun binahong, *Vibrio alginolyticus*, zona hambat.

ABSTRACT

The study aims to determine the influence of the administration of binahong leaf extract (Anredera cordifolia) in solvents and different concentrations in inhibiting the growth of Vibrio alginolyticus bacteria in-Vitro. Test ingredients in the form of binahong leaf water extract and methanol extract of binahong leaves diluted using sterile akuades with concentrations of 0.1%, 1% and 10%. The results showed that binahong leaf water extract and methanol extract of binahong leaves at concentrations of 0.1%, 1% and 10% were able to inhibit the growth of V. alginolyticus bacteria. The highest inhibitory zone in binahong leaf water extract at a concentration of 10% which is 19 mm, while in methanol extract the concentration is 10% which is 16.33 mm. This is because the phytochemical content found in binahong leaf water extract is more than the methanol extract of binahong leaves. In addition, the bland zone that is formed will increase as the concentration of antibacterial ingredients is given.

Keywords: *Aeromonas hydrophilla*, antibacterial, binahong leaf extract, bland zone, *Vibrio alginolyticus*.



PENDAHULUAN

Bakteri merupakan organisme prokariotik yang terdapat hampir di seluruh ekosistem dengan berbagai bentuk kehidupan yaitu bebas, parasit dan patogen. Penyakit pada ikan atau udang yang sering dijumpai pada lokasi budidaya adalah penyakit vibriosis. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri patogen *Vibrio alginolyticus*. Johnny dan Roza (2002) melaporkan kejadian penyakit infeksi bakteri *V. alginolyticus* pada ikan laut budidaya, yaitu pada ikan laut bersirip diantaranya ikan kerapu bebek dan ikan kerapu macan. (Sarjito, 2010) melaporkan bahwa agen penyebab vibriosis pada ikan kerapu yaitu *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, dan *V. harveyi*.

Penanggulangan yang dilakukan pembudidaya saat ini umumnya menggunakan antibiotik, namun jika digunakan secara terus menerus dan tidak teratur menyebabkan resistensi bakteri patogen dan menyebabkan efek samping. Untuk itu daun binahong dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif yang mudah di dapat. Hasil penelitian Salikin *et al.* (2014), mengemukakan bahwa penggunaan ekstrak tanaman binahong merupakan bahan alami yang mengandung berbagai bahan aktif yang berfungsi sebagai antimikroba dan dapat mencegah serangan bakteri *Aeromonas caviae* pada ikan mas. Untuk itu daun binahong dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif yang mudah didapat.

Berdasarkan uji fitokimia dengan menggunakan etilasetat pada daun binahong secara kuantitatif diketahui terdapat 9,614% senyawa flavonoid yaitu antioksidan pada tanaman binahong (Ratna, 2012). 3,128% senyawa alkaloid, dan 11,001% senyawa pelifenol (Mufid, 2010). Berdasarkan kemampuan efektivitas ekstrak daun binahong (*A. cordifolia*) maka perlu di lakukan pengujian lanjutan mengenai efektivitas ekstrak daun binahong terhadap bakteri *V. alginolyticus*.

METODELOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Balai Karantina Ikan kelas 1 Kota Kupang pada bulan Mei-Juni 2020.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari dua tahapan, di mana tahap pertama adalah pengujian kandungan fitokimia dari ekstrak air daun binahong dan ekstrak metanol daun binahong, tahapan kedua yaitu perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong yang terdiri dari 3 perlakuan yakni konsentrasi 0,1%, 1%, 10%, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Ekstraksi Daun Binahong

Sampel daun binahong yang dikumpulkan dicuci pada air mengalir hingga bersih, kemudian dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Selanjutnya dihaluskan menggunakan blender. Bahan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu air panas dan metanol. Untuk ekstraksi air panas, serbuk daun binahong ditimbang sesuai dosis perlakuan yaitu 0,1 g, 1 g, dan 10 g, dilarutkan pada 100 ml akuades dan direbus hingga mendidih. Hasil rebusan diendapkan selama 6 jam sebelum digunakan. Sebelum digunakan larutan disaring, hasil saringan kemudian dimasukkan dalam eppendorf sebanyak 1 ml direndam selama 15-30 menit dan siap untuk diuji (Salosso, 2019).

Ekstraksi menggunakan pelarut metanol yaitu 250 g serbuk daun binahong direndam dengan metanol secukupnya selama 3 hari dan diaduk 3-4 menit setiap hari, kemudian larutan ekstrak metanol daun binahong disaring menggunakan kertas saring. Langkah berikutnya hasil saringan yang diperoleh di buat 3 macam konsentrasi yaitu 0,1%, 1% dan 10% dengan



menggunakan NaCl fisiologis sebagai pengencer (Kartika *et al.*, 2016).

Uji Kandungan Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Kimia Universitas Nusa Cendana Kupang. Uji Fitokimia pada penelitian ini dilakukan hanya sampai pada tahap kualitatif. Dengan mengikuti prosedur pengujian pada laboratorium Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Cendana, yang bertujuan untuk melihat kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Senyawa metabolit sekunder ekstrak daun (*A. cordifolia*) yang diuji adalah flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan alkaloid. Kelima senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki aktivitas antibakteri.

Uji Aktivitas Antibakteri

Langkah awal yang dilakukan yaitu pembuatan media TSA 2% yaitu dengan melarutkan 8 g serbuk TSA dan 3 g serbuk NaCl pada 200 ml air, lalu dididihkan diatas *hot plate* selanjutnya disterilisasi pada *autoclave* suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu disimpan pada suhu ruang hingga suhu mencapai 50°C dan dituangkan pada cawan petri. Langkah selanjutnya yaitu aktivasi bakteri *V. alginolyticus* dengan menambahkan pepton 2% pada wadah penyimpanan bakteri murni dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam.

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri yaitu metode difusi cakram. Kertas cakram yang telah di steril direndam selama 30 menit pada masing-masing konsentrasi yang telah dibuat yaitu 0,1%, 1%, 10%, kemudian diangkat menggunakan pinset steril dan dipindahkan secara aseptik pada permukaan media TSA semi solid dan dibiarkan kurang lebih 30 menit, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan aktivitas antibakteri dengan

mengukur diameter zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat ditandai dengan zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram.

Analisis Data

Data hasil penelitian uji aktivitas antibakteri yang diperoleh kemudian dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA). Jika nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata akan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Hasil pengujian kandungan fitokimia ekstrak metanol daun binahong dan ekstrak air panas daun binahong dapat dilihat pada Tabel berikut ini:

Tabel 1. Hasil Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Binahong

Sampel	Jenis fitokimia				
	Alkaloid	Fenol	Flavonoid	Tanin	Saponin
Ekstrak metanol	+	+	-	+	-
Ekstrak Air Panas	+	+	-	+	+

Laboratorium Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Kimia, Universitas Nusa Cendana

Hasil uji fitokimia pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kandungan senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun binahong menggunakan bahan pelarut air panas lebih banyak dibandingkan ekstrak daun binahong menggunakan bahan pelarut metanol. Pada ekstrak daun binahong dengan air panas menghasilkan empat senyawa yakni alkaloid, fenol, tanin dan saponin, sedangkan ekstrak daun binahong dengan metanol hanya menghasilkan tiga senyawa yakni alkaloid,

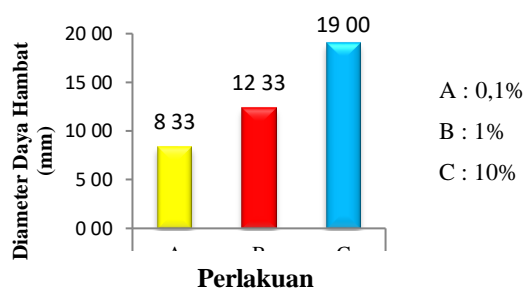


fenol dan tanin. Hal ini dibuktikan dengan keadaan positif dan negatif dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun binahong baik pada bahan pelarut air maupun metanol.

Pada senyawa alkaloid, ekstrak daun binahong dengan kedua bahan pelarut metanol dan air memberikan hasil yang positif yang ditandai dengan adanya endapan putih pada penambahan pereaksi meyer dan terdapat endapan merah bata pada penambahan pereaksi dragendorf. Pada senyawa fenol, ekstrak daun binahong dengan kedua bahan pelarut metanol dan air juga memberikan hasil yang positif yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Pada senyawa tanin, ekstrak daun binahong dengan kedua bahan pelarut metanol dan air juga memberikan hasil yang positif yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman dan terbentuknya endapan. Pada senyawa saponin, ekstrak daun binahong yang memberikan hasil positif hanya terdapat pada bahan pelarut air yang ditandai dengan terbentuknya busa.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Binahong Terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri *V. alginolyticus*

Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian menunjukkan bahwa secara keseluruhan konsentrasi ekstrak air daun binahong mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Hasil uji antibakteri ekstrak air daun binahong terhadap bakteri *V. alginolyticus* dapat dilihat pada Gambar 6 dibawah ini.



Gambar 6. Hasil uji ekstrak air daun binahong terhadap diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus*

Data pada Gambar 6 menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun binahong 10% menghasilkan daya hambat bakteri *V. alginolyticus* tertinggi, kemudian diikuti oleh daya hambat pada konsentrasi ekstrak daun binahong 1% dan konsentrasi 0,1% yang menghasilkan daya hambat bakteri *V. alginolyticus* terendah. Hasil ini memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak air daun binahong mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Hal ini didukung dengan hasil sidik ragam yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air daun binahong berpengaruh sangat nyata dengan diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus*. Rerata diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Konsentrasi Ekstrak Air Daun Binahong Terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri *V. alginolyticus*

Perlakuan	Diameter Daya Hambat Bakteri <i>V. alginolyticus</i> (mm)	
Konsentrasi 0,1%	8,33	a
Konsentrasi 1%	12,33	b
Konsentrasi 10%	19	c
BNT 5%	2,66	

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda dalam kolom, bermakna berbeda pada uji BNT 0,05.

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat variasi diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus* antar perlakuan. Diameter daya hambat tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong 10% dan



berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya. Data pada Tabel 2 juga terlihat bahwa daya hambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak air daun binahong yang diberikan, karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak air daun binahong maka semakin banyak zat-zat antibakteri yang terkandung di dalamnya sehingga semakin meningkat pula daya hambat bakteri *V. alginolyticus*. Hal ini sejalan dengan penelitian Kartika *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara in-vitro. Daya hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* akan semakin luas seiring dengan peningkatan laju konsentrasi ekstrak daun binahong yang diberikan. Sementara itu, hasil penelitian ini terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Timur (2018) yang mengatakan bahwa pemberian ekstrak etil asetat daun binahong dengan konsentrasi 5% dan 10% belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Daya hambat bakteri *S. mutans* mulai terlihat setelah konsentrasi ekstrak etil asetat daun binahong dinaikkan menjadi 15%, 20% dan 25% yang menghasilkan daya hambat berturut-turut 2,73 mm, 9,1 mm, dan 13,5 mm.

Pembentukan zona hambat pada tiap konsentrasi dikarenakan adanya aktivitas antibakteri dari senyawa-senyawa antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak daun binahong sehingga dapat berperan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Berdasarkan hasil analisis fitokimia, ekstrak daun binahong menggunakan air panas mampu menghasilkan senyawa aktif berupa alkaloid, fenol, tanin dan saponin. Keberadaan senyawa-senyawa ini dinilai dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* karena memiliki peran sebagai antibakteri. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh golongan senyawa

antibakteri memiliki aktivitas yang berbeda-beda.

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson 1995).

Tanin merupakan zat yang terdapat dalam berbagai tumbuhan salah satunya terdapat pada tanaman binahong. Tanin ini mampu merusak membran sel bakteri. Tanin yang terdapat pada ekstrak daun binahong kontak dengan membran sel bakteri, kemudian mengaktivasi enzim dan merusak fungsi materi genetik sel bakteri. Keadaan tersebut menyebabkan sel bakteri di sekitar kertas cakram akan mengalami kerusakan titik tumbuh dan akhirnya terbentuk zona jernih atau zona hambat (Akiyama *et al.*, 2001).

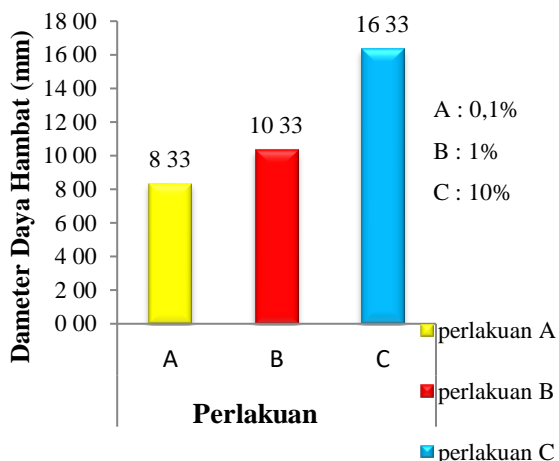
Fenol merupakan senyawa bioaktif yang bersifat polar dan berperan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja senyawa dalam membunuh sel bakteri yaitu dengan cara mendenaturasinya protein sel bakteri, maka semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalis oleh enzim yang merupakan protein. Purwatiningsih (2014) menyatakan bahwa dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri, sedangkan dalam konsentrasi yang lebih rendah, fenol menginaktifkan sistem enzim penting dalam membran sel.

Saponin merupakan glikosida yang larut di dalam air. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Jadi mekanisme kerja saponin yakni mengganggu permeabilitas sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Mardiana, 2013).



Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Binahong Terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri *V. alginolyticus*

Hasil pengamatan zona hambat ekstrak metanol daun binahong terhadap bakteri *V. alginolyticus* dapat dilihat pada Gambar 8 di bawah ini.



Gambar 8. Hasil uji ekstrak metanol daun binahong terhadap diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus*

Data pada Gambar 8 menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak metanol daun binahong 10% menghasilkan daya hambat bakteri *V. alginolyticus* tertinggi, kemudian diikuti oleh daya hambat pada konsentrasi ekstrak daun binahong 1% dan konsentrasi 0,1% yang menghasilkan daya hambat bakteri *V. alginolyticus* terendah. Hasil ini memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak daun binahong dengan bahan pelarut metanol mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Hal ini didukung dengan hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol daun binahong (*A. cordifolia*) berpengaruh sangat nyata dengan diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus*. Rerata diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus* dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Rerata Konsentrasi Ekstrak Metanol Daun Binahong Terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri *V. alginolyticus*

Perlakuan	Diameter Daya Hambat Bakteri <i>V. alginolyticus</i> (mm)	
Konsentrasi 0,1%	8,33	A
Konsentrasi 1%	10,33	A
Konsentrasi 10%	16,33	B
BNT 5%	2,03	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda dalam kolom, bermakna berbeda pada uji BNT 0,05.

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat variasi diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus* antar perlakuan. Diameter daya hambat tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi 10% dan berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya. Data pada Tabel 4 juga terlihat bahwa daya hambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak metanol daun binahong yang diberikan. Hal ini sejalan dengan penelitian Ginting (2000) yang menunjukkan bahwa hasil uji efektivitas antibakteri *S. mutans* menggunakan ekstrak daun binahong memperlihatkan semakin besar konsentrasi maka aktivitas antibakteri yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang meningkat mengakibatkan aktivitas antibakteri semakin besar. Sementara itu, hasil penelitian ini terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Timur (2018) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etil asetat daun binahong dengan konsentrasi 5% dan 10% belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Daya hambat bakteri *S. mutans* mulai terlihat setelah konsentrasi ekstrak etil asetat daun binahong dinaikkan menjadi 15%, 20% dan



25% yang menghasilkan daya hambat berturut-turut 2,73 mm, 9,1 mm, dan 13,5 mm.

Pembentukan zona hambat pada tiap konsentrasi dikarenakan ekstrak metanol daun binahong mengandung senyawa-senyawa antibakteri yang dapat berperan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Berdasarkan hasil uji kandungan fitokimia, di mana ekstrak metanol daun binahong mampu menghasilkan senyawa aktif berupa alkaloid, fenol dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan terjadinya kematian sel (Robinson 1995). Kemampuan antibakteri dari tanin diduga karena tanin dapat mengkerutkan dinding sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri dan menyebabkan kerusakan dinding sel (Dwidjosepoetro, 1987). Dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri, sedangkan dalam konsentrasi yang lebih rendah, fenol menginaktifkan sistem enzim penting dalam membran sel. Oleh karena itu, pada saat ekstrak daun binahong dengan metanol diberikan dengan konsentrasi yang lebih banyak, diameter daya hambat bakteri *V. alginolyticus* pun semakin besar (Purwatiningsih, 2014).

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa

1. Kandungan fitokimia daun binahong terbanyak terdapat pada ekstrak air daun binahong dibandingkan ekstrak metanol daun binahong.

2. Ekstrak air daun binahong memberikan daya hambat lebih besar pada bakteri *V. alginolyticus* terdapat pada perlakuan konsentrasi 10% dengan diameter daya hambat yaitu 19 mm, sedangkan konsentrasi larutan ekstrak metanol daun binahong yang memberikan daya hambat yang paling tinggi pada pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* terdapat pada perlakuan konsentrasi 10% dengan diameter daya hambat 16,33 mm

Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas, peneliti memberi saran bahwa perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa penelitian secara in-vivo dengan menggunakan ekstrak daun binahong sebagai bahan antibakteri untuk menyembuhkan ikan yang terserang bakteri kelompok vibrio yang menyerang ikan budidaya, sehingga dapat memberikan informasi yang lengkap tentang manfaat daun binahong dalam bidang akuakultur.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. 2001. Antibacterial Action of Several Taninnins Against *Staphylococcus aureus*. Jurnal Activities Centre.48 (4): 487-491.
- Darsana I. G. O, Besung I. N. K, Mahatmi H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In vitro. Indonesia Medicus Veterinus. 1(3): 337-351.
- Dwidjosepoetro D. 1987. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan: Jakarta. 214 hal



- Ginting T. 2000. Penuntun Praktikum Kimia Dasar I. Fakultas Pertanian. 60 hal.
- Johnny F, Roza D. 2002. Kejadian Penyakit pada Budidaya Ikan Kerapu dan Upaya Pengendaliannya. Laporan Hasil Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol., Bali. 14 hal.
- Juliana. 2018. Model Pemanfaatan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Antibakteri Ramah Lingkungan pada Budidaya Ikan Air Tawar. Karya tulis. Gorontalo. 11 hal.
- Kartika G. R. A, Andayani S, Soelistyowati. 2016. Potensi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Penghambat Bakteri *Vibrio harveyi*. Journal of Aquatic Research and Marine Aquatic Science 2 (2): 49-53
- Khunaifi M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Andredera cordifolia* (Ten) Steeni Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*). Skripsi. Jurusan Biologi fakultas sains dan teknologi: Malang Universitas Islam Negeri (Uin) Maulana Malik Ibrahim. 117 hal.
- Mardiana L. 2013. Daun Ajaib Tumpas Penyakit. Jakarta : Penebar Swadaya. 172 hal.
- Purwatiningsih U. S. 2014. Kerusakan Jaringan pada Ikan Kancra (*Tor sp.*) Akibat Infksi Artificial Bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Prosiding Seminar Nasional Perikanan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 182 hal.
- Ratna D. 2012. Antioxidant Activity of Flavonoid from *Andredera cordifolia* (Ten) Steenis. Leave. International research journal of pharmacy. 3(9): 241-243.
- Robinso T. 1995. Kandungan Organ Tumbuhan Tinggi. (Terjemahan Koasasih Padmawinata). Bandung: Institut Teknologi Bandung. 367 hal.
- Salikin R. Q, Sarjito, Prayitno S. B. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia*) Terhadap Mortalitas dan Histologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) yang Diinfeksi bakteri *Aeromonas Caviae*. Journal of Aquaculture Management and Technology. 3 (3): 43-50.
- Salosso Y. 2019. The Potential of Forest Honey (*Apis Spp*) From Timor Island As Antiacterial Against Phathogenic Bacteria in Fish culture. Indonesian Aquaculture Journal. 14 (2): 63-68
- Sarjito S. 2010. Phylognetic Diversity of Causative Agents of Vibriosis Associated with Grouper Fish from Karimunjawa Islan. Indonesia. Jurnal current research in bacteriologi. 16 (2):14-21.
- Timur W. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asesat Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Terhadap Penghambatan Bakteri *Streptococcus mutans* Secara In Vitro. Jurnal Ilmu Kesehatan. 13 (27): 134-142