

**AKTIVITAS ANTIBIOFILM DAN ANTIBAKTERI DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa***

Chossy Fradine*, Ismi Rahmawati, Opstaria Saptarini
Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

Email*: chosy.fradini@gmail.com

Artikel dipublikasikan pada: *Webinar Nasional & Call for Paper*
**”Inovasi Terkini dalam Dunia Kesehatan: Terapi Gen dan Perkembangan Obat
Baru Berbasis Genomika dalam Mengubah Paradigma Pengobatan”**
28 Oktober 2023

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v8i3.1705>

ABSTRAK

Tumbuhan di Indonesia yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis). Daun binahong mengandung senyawa tannin, flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Penelitian bertujuan memahami potensi ekstrak maupun fraksi etil asetat, air, n-heksan dalam menghambat pembentukan biofilm, degradasi biofilm, nilai KHM, dan nilai KBM bakteri *P. aeruginosa* serta mengetahui pengaruh kerja fraksi teraktif daun binahong. Daun binahong diekstraksi mempergunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Ekstrak kental lalu difraksinasi dengan pelarut etil asetat, air, serta n-heksan. Uji aktivitas antibiofilm dilakukan mempergunakan alat microplate dan pembacaan dilakukan dalam panjang gelombang 595 nm. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi. Nilai rerata IC₅₀ uji penghambatan pembentukan biofilm pada fraksi n-heksan, ekstrak, air, etil asetat pada bakteri *P. aeruginosa* adalah 1,21; 0,94; 0,78; 1,03. Nilai EC₅₀ uji degradasi biofilm pada fraksi n-heksan, ekstrak, air, etil asetat pada bakteri *P. aeruginosa* adalah 16,06; 10,95; 5,92; 12,35. Nilai konsentrasi bunuh minimum fraksi air daun binahong terhadap *P. aeruginosa* adalah 512 mg/ml.

Kata kunci: Antibakteri, Antibiofilm, Daun Binahong, *P. aeruginosa*.

ABSTRACT

*Plant in Indonesia that has antibacterial activity is binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis). Binahong leaf contains flavonoid, saponins, tannins and terpenoids compounds. The purpose of the study are determining the potential of extracts and fractions (n-hexane, ethyl acetate and water) in inhibiting the formation of biofilms, biofilm degradation and the value of *P. aeruginosa* bacterial MBC and to determining the working location of the most active binahong leaf fraction. Binahong leaf is extracted by using maceration method with ethanol as solvent. Then the viscous extract is fractionated with n-hexane, ethyl acetate and water. Antibiofilm activity test is carried out using a microplate and absorbance readings using a microplate reader at a wavelength of 595 nm. The antibacterial activity test uses the dilution method. The IC₅₀ value of the biofilm inhibition test*

on the extract, water fraction, ethyl acetate and n-hexane for *P. aeruginosa* bacteria was 0,94; 1,21; 1,03; 0,78. The EC_{50} value of the biofilm degradation test on the extract, n-hexane, ethyl acetat, water e for *P. aeruginosa* bacteria is 10,95; 16,06; 12,35; 5,92. The minimum bactericidal concentration value of binahong leaf water fraction for *P. aeruginosa* is 512 mg/ml.

Keywords: Antibacterial, Antibiofilm, Binahong leaf, *P. aeruginosa*.

PENDAHULUAN

Tingginya angka mortalitas dan morbiditas dalam penyakit infeksi terjadi karena adanya resistensi. Bakteri dapat menjadi resisten dengan membentuk biofilm, biofilm dihasilkan oleh beberapa bakteri patogen, salah satu diantaranya adalah *Pseudomonas aeruginosa*, sehingga infeksi biofilm bakteri *P. aeruginosa* tidak mudah dieradikasi dan sering menyebabkan infeksi persisten (Theodora *et al.*, 2019).

Pengembangan obat guna mengetahui aktivitas antibiofilm dinilai krusial untuk strategi dalam mengantisipasi terdapatnya resistensi obat (Fair & Tor, 2014). Roy *et al.*, (2018) menyatakan bahwasanya pertumbuhan biofilm bisa diperlambat dengan memakai antimikroba yang mempunyai potensi dalam melewati matriks biofilm.

Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis) terdapat

kandungan terpenoid, saponin, flavonoid, tanin, alkaloid yang memberi kemampuan manfaat untuk kesehatan (Karimatulhaji, 2020).

Penelitian terdahulu telah dilakukan uji fitokimia tanaman binahong ditemukan bahwasanya daun tersebut terdapat kandungan senyawa polifenol, flavonoid, serta alkaloid (Leliqia *et al.*, 2017). Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri memakai metode dilusi diperoleh KHM ekstrak etil asetat daun binahong pada bakteri *P. aeruginosa* yaitu sebesar 50 % dan KBM ekstrak etil asetat daun binahong pada bakteri *P. aeruginosa* sebesar 100 % (Sulistiyarsi & Pribadi, 2018). Adanya KHM dan KBM yang merupakan awalmula proses pembentukan biofilm, maka bila dilakukan penghambatan sehingga diharap terganggu pula pembentukan biofilm.

Penelitian tujuannya memahami aktivitas antibiofilm

ekstrak maupun fraksi n-heksana, air, serta etil asetat pada *Pseudomonas aeruginosa* dan memahami fraksi yang teraktif yang membuktikan aktivitas antibiofilm pada *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang dipergunakan pada penelitian merupakan seperangkat alat gelas, waterbath, autoclave, rotary evaporator, mikroskop, Biorad iMark, siringe, Iwaki, blue tip.

Bahan tumbuhan telah dilakukan proses determinasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Bahan yang dipakai etanol 96%, nheksana, etil asetat, aqua destilata steril, air. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853, nutrient broth (Merck®), brain heart infusion broth (Merck®), nutrient agar (Merck®), kristal violet (Merck®). Kontrol positif siprofloxacin.

Ekstraksi dan fraksinasi

Serbuk simplisia daun binahong dimasukkan ke wadah yang warnanya gelap kemudian ditambah etanol sembilan puluh enam persen memiliki perbandingan 1:10,

kemudian dilakukan perendaman selama enam jam pertama dan sesekali diaduk pelan-pelan. Hasil maserasi bisa dipisah dengan dekantasi, ataupun disaring. Ekstrak maserat yang sudah didapatkan lalu dipekatkan menggunakan vacum rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental (Depkes RI, 2000).

Fraksinasi mempergunakan cara ekstraksi cair pada ekstrak etanol sembilan puluh enam persen daun binahong mempergunakan sejumlah pelarut yakni etil asetat, nheksana, air dilakukan pengulangan sejumlah tiga kali. Hasil fraksi yang diperoleh lalu dikentalkan dengan penangas air hingga kental.

Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun binahong

Identifikasi kandungan senyawa kimia terhadap ekstrak maupun fraksi daun binahong berlandaskan pada yang terdapat dalam Fransworth, 1966.

Persiapan sampel uji dan identifikasi bakteri

Kontrol pengujian fraksi yang memiliki variasi kosentrasi 20, 40 serta 80 mg/ml. Pembuatan kontrol positif dengan penimbangan

siprofloxacine sejumlah 0,06 mg/ml lalu dilakukan pelarutan menggunakan aquadest steril.

Pengidentifikasi bakteri *P. aeruginosa* makroskopis, biokimia, serta mikroskopis dalam mengetahui kebenaran bakteri.

Optimasi waktu pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa*

Optimasi ini tujuannya memperoleh waktu inkubasi maksimal untuk membuat biofilm. Variasi waktu inkubasi yang dipakai, satu, dua, tiga hari, dilaksanakan pembacaan pertumbuhan biofilm memakai alat iMark- Biorad Microplate Reader.

Uji aktivitas penghambatan pembentukan biofilm.

Uji ini dilaksanakan mempergunakan microplate round bottom polystyrene 96 wells memakai media BHI, dibaca pada λ 595 nm. Setiap pengujian diciptakan replikasi tiga kali (Kırmusaoğlu, 2019). Kontrol positif mempergunakan siprofloxacine yang memiliki konsentrasi 0,06 mg/ml.

Nilai IC_{50} *Pseudomonas aeruginosa* ditetapkan berdasarkan persamaan regresi linier diantara

konsentrasui sampel dan persentase penghambatan biofilm.

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = \frac{\text{DO Kontrol negatif} - \text{DO Sampel}}{\text{DO Kontrol negatif}} \times 100 \%$$

*Keterangan: DO (Densitas Optik)

Uji aktivitas degradasi biofilm

Uji ini dilaksanakan mempergunakan microplate roundbottom polystyrene 96 wells memakai media BHI. Kontrol positif mempergunakan siprofloxacine memiliki konsentrasi 0,06 mg/ml.

$$\% \text{ Penghambatan Biofilm} = \frac{\text{DO Kontrol negatif} - \text{DO Sampel}}{\text{DO Kontrol negatif}} \times 100 \%$$

*Keterangan: DO (Densitas Optik)

Uji aktivitas penghancuran biofilm *Pseudomonas aeruginosa* dimuatkan dengan parameter EC_{50} . Nilai EC_{50} ditetapkan berdasarkan persamaan regresi linier diantara konsentrasi sampel dan persentase penghancuran biofilm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Penelitian mempergunakan serbuk daun binahong 1000 g menghasilkan ekstrak daun binahong sebanyak 200 g maka persen rendemen yang didapatkan merupakan

dua puluh. Penelitian dari Kumalasari & Sulistyani, (2011) daun binahong yang diekstraksi dengan pelarut etanol 70% mempunyai rendemen ekstrak sebanyak 10, 19%.

Sesuai pemaparan Febrina et al. (2015) faktor yang memberikan pengaruh pada hasil ekstraksi merupakan suhu, pengadukan, waktu, ukuran sampel dan pelarut memberikan pengaruh pula pada jumlah rendemen. Bertambah kecilnya luas permukaan sampel akan meluaskan kontak juga menambah hubungan dengan pelarut (Sineke et al., 2016).

Penelitian mempergunakan ekstrak daun binahong sejumlah 20 g, menghasilkan fraksi n-heksana sejumlah 4 g, fraksi etil asetat sejumlah 2 g, fraksi air sejumlah 13,5 g. Fraksi air yang diperoleh lebih besar daripada fraksi lainnya sebab kebanyakan senyawa yang ada di daun binahong memiliki sifat polar.

Hasil Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Tabel 1. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun binahong

Metabolit Sekunder	Ekstrak	Fraksi		
		n-heksan	etil Asetat	Fraksi Air
Flavonoid				
Saponin	+	-	+	+
Tanin	+	-	-	+
Alkaloid	+	-	-	+
Triterpenoid	+	+	+	-

Keterangan:

(+)=Ada kandungan senyawa uji

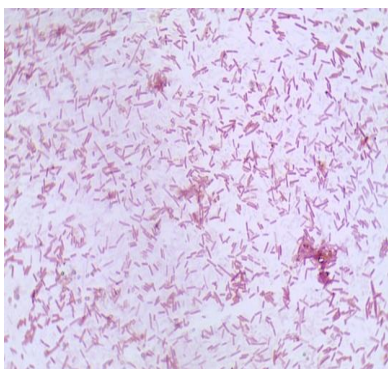
(-) = Tidak ada kandungan senyawa uji

Hasil Identifikasi Bakteri

Hasil identifikasi makroskopis dalam Gambar 1. membuktikan bakteri *P. aeruginosa* yang ditanam di media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA) Pemberian glycerol di media mikrobiologi akan sebagai sumber energi juga menambah pyocyanin yakni pigment yang diproduksi khusus oleh *P. aeruginosa*. Kandungan magnesium kloride maupun potassium sulphate akan menambah produksi pyocyanin. Hasil identifikasi membuktikan bakteri *P. aeruginosa* yang ditumbuhkan di media PSA menciptakan koloni bulat serta ada perubahan dihasilkan dari pigmen pyocianine.



Gambar 1. Hasil identifikasi makroskopis *P. aeruginosa* pada Media PSA



Gambar 2. Hasil identifikasi mikroskopis *P. Aeruginosa*

Observasi *P. aeruginosa* secara mikroskopis dalam Gambar 2 memakai perwarnaan Gram perbesaran kuat (1000x). Hasil pewarnaan Gram membuktikan bakteri *P. aeruginosa* adalah bakteri Gram negatif yang diperlihatkan berdasarkan sel yang warnanya merah, sel bentuknya batang, dan sel tersebar. Sifat bakteri Gram negatif memiliki kandungan lipid tebal di dinding sel struktur dinding selnya ini menjadikan bakteri Gram negatif memiliki afinitas rendah. Bakteri Gram negatif tidak

bisa menahan kompleks zat warna iodin serta menjadi translusen (Sulviana *et al.*, 2018).

Tabel 2. Hasil Identifikasi uji biokimia *P. aeruginosa* ATCC 27853

Media	Hasil Pengamatan	Pustaka (Volk & Wheller 1990)
KIA	K/K S-	K/K S-
LIA	K/K S-	K/K S-
SIM	- - +	- - +
Citrat	+	+

Keterangan:

- KIA : Kligler Iron Agar
- S : Terbentuk sulfide (Warna hitam)
- LIA : Lysine Iron Agar
- A : Reaksi asam
- SIM : Sulfida Indol Motility
- K : Reaksi basa

Optimasi Waktu Pembentukan Biofilm

Optimasi waktu pembentukan biofilm *P. aeruginosa* dilaksanakan selama tiga hari mempergunakan alat Elisa Reader yang panjangnya gelombang 595 nm.

Tabel 3. Hasil optimasi waktu pembentukan biofilm

No	Absorbansi		
	24 Jam	48 Jam	72 Jam
1	0.132	0.271	0.361
2	0.138	0.265	0.372
3	0.156	0.249	0.381
4	0.118	0.242	0.359
5	0.102	0.256	0.365
6	0.093	0.283	0.371
7	0.121	0.291	0.394
8	0.101	0.258	0.387
9	0.123	0.255	0.379
10	0.155	0.247	0.388
Rata-rata	0.124 ± 0.021	0.262 ± 0.014	0.376 ± 0.011

Berlandaskan tabel di atas, diketahui *P. aureginosa* bisa menciptakan biofilm yang positif dan paling maksimal di waktu inkubasi selama tiga hari. Sesuai pemaparan Pambayun et al. (2008) melihat kurva pertumbuhan bakteri *P. aureginosa* mencakup sejumlah fase pertumbuhan, yakni fase lag, fase log, fase stasioner, kematian.

Panjang gelombang optimum yang dipakai pada penelitian merupakan 595 nm, berlandaskan jurnal Tobi et al., 2022 melaksanakan optimasi panjang gelombang mempergunakan 3 variasi yakni 595 nm, 655 nm, serta 490 nm sedangkan panjang gelombang yang paling maksimum untuk melakukan pembacaan biofilm yakni 595 nm dipelihatkan dengan nilai OD paling besar dalam masing-masing pembacaan.

Pertumbuhan biofilm bakteri *P. aureginosa* yang paling maksimal di hari ketiga memiliki nilai rerata OD sebanyak 0,376. Waktu itu sebagai waktu maksimal pertumbuhan biofilm. Pembentukan biofilm dimulai saat bakteri melekat di situasi permukaan lewat molekul organik.

Tingkatan perlekatan sel mikroba diatur faktor misalnya keadaan lapisan permukaan, sifat permukaan, karakteristik, juga hidrodinamika melalui media cair, beberapa karakteristik permukaan sel mikroba, regulasi gen dan kuorum sensing (Mahami & Gyamfi, 2011). Pembentukan biofilm dapat terjadi diberbagai jenis permukaan dan berbagai kondisi lingkungan dimana bakteri berada. Bakteri, molekul organik dan anorganik yang ada pada permukaan lalu menciptakan situasi film. Substrat anorganik maupun organik ini bersamaan dengan mikroorganisme mengalami perpindahan ke permukaan lewat difusi ataupun sesuai dengan aliran cairan. Transfer nutrisi lebih tinggi dalam biofilm daripada fase cair (Riemann & Cliver, 2006).

Aktivitas Penghambatan Pembentukan Biofilm

Pembentukan biofilm pada penelitian ini diukur secara kuantitatif dengan teknik kristal violet assay. Nilai OD yang didapatkan menggambarkan ketebalan dari biofilm yang terbentuk. Nilai rata-rata

persen penghambatan pembentukan biofilm yang terlihat pada Tabel

Tabel 4. Hasil persentase rata-rata penghambatan pembentukan biofilm

Konsentrasi	Ekstrak	Fraksi n-heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
20 mg/ml	55,80 ± 0,79	50,59 ± 1,27	54,25 ± 0,45	61,37 ± 1,03
40 mg/ml	63,38 ± 0,93	56,26 ± 0,26	61,10 ± 1,25	68,22 ± 0,81
80 mg/ml	66,67 ± 0,93	58,81 ± 1,10	65,11 ± 0,96	72,88 ± 0,45
Kontrol positif	75,43 ± 0,46			

Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik siprofloksacin. Siprofloksacin memiliki mekanisme kerja memblokir sintesis DNA dengan menghambat enzim topoisomerase II dan enzim topoisomerase IV, antibiotik ini masuk ke sel secara difusi pasif lewat kanal protein yang berisikan air di membran intarseluler. Penghambatan DNA gyrase dapat mencegah perenggangan (*relaxation*) DNA superkoil positif yang diperlukan untuk transkripsi normal dan replikasi. Penghambatan topoisomerase IV mengganggu pemisahan dari replikasi kromosom DNA ke dalam tiap-tiap sel anak selama pembelahan sel, yang berakhir pada kematian sel bakteri (Pomeri, 2011). Sehingga peneliti mengasumsikan bahwa siprofloksacin

bekerja memblokir transkripsi sintesis DNA yang ada pada bakteri maupun pada biofilm.

Tabel 5. Nilai IC₅₀ Penghambatan Pembentukan Biofilm

Sam- pel	Nilai IC ₅₀ penghambatan pembentukan biofilm (mg/ml)			Rata- rata IC ₅₀
	R1	R2	R3	
	Ekstrak	0.908	1.007	
Fraksi n-heksana	1.273	1.262	1.104	1.213 ± 0.077
Fraksi etil asetat	0.991	1.038	1.078	1.036 ± 0.036
Fraksi air	0.586	0.660	1.104	0.783 ± 0.229

Hasil persen (%) penghambatan biofilm *P.* memberikan nilai IC₅₀ nilai paling kecil sebanyak 0,783 mg/ml dalam fraksi air. Fraksi air daun binahong mengandung beberapa kandungan senyawa kimia, diantaranya adalah senyawa flavonoid juga tanin yang memiliki potensi bisa memperlambat intercellular adhesion genes *icaA* dan *icaD* merupakan faktor pembentukan biofilm (Lee et al., 2013). Penghambatan ekspresi gen *ica* ini menyebabkan tanin dan flavonoid juga dapat menghambat adhesi sel bakteri, baik perlekatan bakteri dengan permukaan substrat dan perlekatan

antara bakteri, yang mana adhesi merupakan faktor utama dalam pembentukan biofilm (Nuryastuti, 2010). Kemampuan penghambatan biofilm dari suatu senyawa terkait dengan kemampuan penetrasi senyawa itu ke biofilm yang terbentuk, yaitu dapat berpenetrasi dalam lapisan EPS ataupun lapisan lendir yang menyelubungi bakteri.

Aktivitas Degradasi Biofilm

Berdasarkan Tabel 6, dapat diketahui bahwasanya persentase degradasi biofilm paling tinggi ada dalam fraksi air dengan dosis 80 mg/ml yaitu sebesar 72,80%. Hasil data persentase degradasi biofilm digunakan untuk menentukan nilai EC₅₀.

Berlandaskan hasil pengujian degradasi biofilm memakai ekstrak juga fraksi-fraksi daun binahong terlihat memiliki aktivitas dalam menghancurkan atau degradasi biofilm pada *P. aureginosa* memberi nilai IC₅₀ paling kecil sebanyak 0,783 mg/ml dalam fraksi air. IC₅₀ adalah konsentrasi, tetapi fraksi air melebihi fraksi etil asetat dan n-heksana. Fraksi air mempunyai kemampuan degradasi biofilm sebesar 5,920 mg/ml, fraksi n-

heksana 16,061 mg/ml, fraksi etil asetat 12,352 mg/ml.

Tabel 6. Hasil rata-rata persentase degradasi biofilm

Konsentrasi	Ekstrak	Fraksi n-heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
20 mg/ml	55,03 ± 1,16	50,90 ± 0,99	53,77 ± 0,77	60,41 ± 1,16
40 mg/ml	64,99 ± 0,79	59,07 ± 1,01	58,89 ± 1,21	68,13 ± 1,54
80 mg/ml	68,85 ± 1,04	61,85 ± 1,13	64,54 ± 1,41	72,80 ± 0,44
Kontrol positif	73,43 ± 0,55			

Tabel 7. Nilai EC₅₀ degradasi biofilm

Sampe l	Nilai EC ₅₀ penghambatan pembentukan biofilm (mg/ml)			Rata-rata EC ₅₀
	R1	R2	R3	
Ekstra k	11.91 9	11.83 1	9.100	10.95 0 ± 1.31
Fraksi n-heksan a	18.79 8	15.31 8	14.06 5	16.06 1 ± 2.00
Fraksi etil asetat	10.87 5	13.79 1	12.38 9	12.35 2 ± 1.19
Fraksi air	7.304	4.156	6.299	5.920 ± 1.31

Beberapa mekanisme dalam menghancurkan biofilm diantaranya adalah degradasi matriks biofilm, kematian sel dan kebocoran sel. Kandungan senyawa kimia pada fraksi air daun binahong merupakan saponin, tanin dan flavonoid.

Mekanisme saponin untuk merusak biofilm dengan memberikan

pengaruh pada matriks polimer ekstraseluler yang terdapat di matriks biofilm bakteri maka zat polimer menurun lalu melakukan perubahan integritas membran sel bakteri yang menjadikan dinding sel bakteri tidak stabil. Senyawa terpenoid untuk mendegradasi biofilm bisa menurunkan biofilm yang telah terbentuk serta merusak bakteri di biofilm (Andrade et al., 2019).

Senyawa tannin mempunyai efek kebocoran maupun kematian sel pada biofilm, disamping itu tanin memiliki efek pula bakteriosidik. Senyawa flavonoid memiliki efek memperlambat molekul adhesin yang sangatlah diperlukan untuk membentuk biofilm (Karatan & Watnick, 2009). Flavonoid serta tanin bekerja secara melakukan pengikatan salah satu protein adhesin bakteri yang dipergunakan untuk reseptor permukaan bakteri, maka adanya pengurangan daya perlekatan bakteri dan penghambatan sintesis protein dalam membentuk dinding sel (Agnol et al., 2003; Jagani et al., 2008).

KESIMPULAN

Fraksi air, etil asetat, ekstrak, n-heksana daun binahong bisa memperlambat pembentukan maupun degradasi biofilm bakteri *P. aureginosa* ATCC 27853. Fraksi teraktif daun binahong yang mempunyai aktivitas antibiofilm paling besar yaitu fraksi air bernilai IC_{50} penghambatan biofilm sebanyak $0,783 \pm 0,229$ mg/ml serta nilai EC_{50} degradasi biofilm sebanyak $5,920 \pm 1,31$ mg/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyatakan terima kasih pada keluarga, pembimbing, civitas akademi Universitas Setia Budi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrade, J. C., da Silva, A. R. P., Freitas, M. A., Ramos, B. A., Freitas T. S., et al. 2019. Control of bacterial and fungal biofilms by natural products of *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 65: 226–233.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan pertama: 17-19,

- Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Fair, R. J., & Tor Y. 2014. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*. 6: 25–64.
doi.org/10.4137/PMC.S14459
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Science*, 151(3712), 874–875.
<https://doi.org/10.1126/science.151.3712.874>
- Karimatulhadj, H. (2020). Identifikasi Flavonoid dalam Fraksi Kloroform Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(2), 53–58.
- Kumalasari, E., & Sulistyani, N. (2011). Antifungal Activity Of Ethanol Extract Of Binahong Stem(*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) Against *Candida albicans* And The Phytochemical Screening. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 1(2), 51–62.
- Lee, L. H., Park, J. H., Cho, H. S., Joo, S. W., Cho, M. H., & Lee, J. 2013. Anti-biofilm activities of quercetin and tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Biofouling*. 29(5): 491-499.
- Mahami, T., & Gyamfi, A. 2011. Biofilm-associated infections: Public health implications. *International Research Journal of Microbiology (IRJM)*. 2(10): 375- 381.
- Nuryastuti, T. 2010. Environmental Signals Affecting *Staphylococcus epidermidis* Biofilm [Thesis]. University Medical Center Groningen, University of Groningen, Netherlands.
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S., & Rahayu, K.K. 2008. Sensitivitas bakteri Gram positif terhadap katekin yang diekstraksi dari gambir (*Uncaria gambir*). *Agritech*. 28(4).
- Rahmawati.Ismi. (2021). Pengaruh Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap Dinding Sel Bakteri *S. Aureus*. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati*. 20(1).
- Rahmawati, I., Samsumaharto, R. A., & Iryanto, E. Z. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform dan Air dari Ekstrak Daun Zodia (*Evodia sauevolens*, Scheff.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Jurnal BIOMEDIKA*, 8(2), 9–14.
<http://ejurnal.setiabudi.ac.id/ojs/index.php/biomedika/article/view/199>
- Sineke, F.U., Suryanto, E., & Sudewi, S. 2016. Penentuan kandungan fenolik dan sun protecting factor (SPF) dari ekstrak etanol dari beberapa tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Pharmacon*. 5(1)
- Sulistyarsi, A., & Pribadi, N. W. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*

- (Ten.) Steenis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*. In *Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research* (Vol. 1, Issue 1).
- Susanty, & Yudhistirani, S. A. (2018). Pengaruh Waktu Ekstraksi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap Kemampuan Daya Hambat Bakteri *Escherichia coli* untuk Pembuatan Hand Sanitizer. *Jurnal Konversi*, 7(1), 1–10. <https://jurnal.umj.ac.id/index.php/konversi/article/viewFile/2664/2387>
- Susilowati, D., & Mitha, P. M. (2009). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan , Etil Asetat , dan Etanol 70 % Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten .) Steen) terhadap Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*. 6(3), 19–25.
- Syarifuddin, A., & Sulistyani, N. (2018). Aktivitas Antibiotik Isolat Bakteri Kp13 dan Analisa Kebocoran Sel Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 137–144.
- Theodora, N. A., Dominika, V., & Waturangi, D. E. (2019). Screening and quantification of anti-quorum sensing and antibiofilm activities of phyllosphere bacteria against biofilm forming bacteria. *BMC Research Notes*, 12(1), 10–14. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4775-1>
- Tobi, C. H. B., Saptarini, O., & Rahmawati, I. (2022). Aktivitas Antibiofilm Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(1), 56. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v7i1.43698>