

**Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis*)
dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*
secara *In Vitro***

I GEDE OKA DARSANA,
I NENGAH KERTA BESUNG, HAPSARI MAHATMI

Laboratorium Kesmavet,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl.P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp. 0361-223791,
E-mail : peanutdog_bali@yahoo.com

ABSTRACT

This study examined the response of *Escherichia coli* codes ATCC (American Type Culture Collection) 25922 obtained from the Laboratorium Daerah of binahong juice leaf with determination test the ability of the inhibition of growth of *Escherichia coli* by standard Kirby-Bauer disc using five treatments namely binahong juice leaf (0 %, 25%, 50%, 75% and 100%) and negative controls physiological NaCl 0.9% and a positive control with oxytetracycline with repetition as much as four times. Reaction of *Escherichia coli* growth inhibition by leaf juice and antibiotics binahong shown by the formation of a subsequent inhibition area was measured as the diameter of the circle of the inhibition. Data were obtained, will be tested with Variety Analysis (Test F), followed by Duncan's test of data processing can then proceed to determine the regression analysis. And all the data processed using SPSS.

The results of this study indicate that the juice of binahong leaf (*Anredera cordifolia (Tenore) steenis*) at a concentration of 0% indicates the average resistivity of (0.000 mm); concentration of 25% (7.225 mm); concentration of 50% (8.325 mm) concentration of 75% (10.125 mm) and concentration 100% (12.325 mm). In addition, binahong leaf juice could inhibit the growth of *Escherichia coli* ATCC 25922, and binahong juice leaf statistically significant ($P < 0.01$) against the bacteria *Escherichia coli* and there were highly significant differences ($P < 0.01$) at each concentration diameter. As well, the increased concentration of binahong leaf juice (*Anredera cordifolia (Tenore) steenis*) increased the inhibition on the growth of *Escherichia coli* in vitro.

Key words : binahong leaf (*Anredera cordifolia (Tenore) steenis*), *Escherichia coli*, ATCC (American Type Culture Collection) 25922 .

PENDAHULUAN

Ternak ialah hewan peliharaan, yakni yang kehidupannya berkaitan dengan tempat, perkembangbiakan serta manfaatnya, diatur dan diawasi oleh manusia serta dipelihara khusus sebagai penghasil bahan-bahan dan jasa-jasa yang berguna bagi kepentingan hidup manusia (Perda, 2008). Selain dari fungsi dan keuntungan yang diperoleh dari ternak itu sendiri, terdapat pula penyakit-penyakit yang dapat menjangkiti ternak, seperti infeksi pada ternak yang disebabkan oleh bakteri, virus, parasit, maupun jamur (Besung, 2009). Infeksi adalah proses invasi dan pembiakan mikroorganisme yang terjadi di jaringan tubuh hewan yang dapat menimbulkan gejala klinis (Dorland & Newman, 2002). Agen penyebab infeksi bakterial salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli* penyebab penyakit kolibasilosis pada ternak (Jawetz *et al.*, 2005).

Bakteri *Escherichia coli* secara normal berada di saluran pencernaan bagian bawah dan akan dapat berubah menjadi patogen jika perkembangan kuman di dalam tubuh yang melebihi batas normal, akibat perubahan makanan secara mendadak serta perubahan lingkungan dari panas ke hujan atau sebaliknya. Dampak yang muncul pada penderita ialah: menurunnya berat badan dan kondisi tubuh, pertumbuhan terhambat, dan jika tidak segera ditangani dapat menimbulkan kematian (Besung, 2010). *Escherichia coli* dapat menyebar melalui debu yang terkontaminasi atau melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi dengan feses (Ginns, 2000).

Kejadian kolibasilosis di Bali pada tahun 2009-2010 khususnya di Kabupaten Badung kematian karena kolibasilosis mencapai 1083 ekor babi sedangkan untuk ayam sebanyak 1945 kasus (Disnak, 2010). Pada babi, prevalensi *Escherichia coli* antara 13,40-43,70% dengan rata-rata 24,70% dan mortalitas anak babi 12,20-31,60% dengan rata-rata 17,90% (Supar, 1999). Kasus diare pada anak sapi pada daerah sentra pengembangan sapi perah (Jawa Barat) berkisar antara 19-40%, dengan kematian pedet dibawah umur 1 bulan berkisar antara 8-19%, yang terjadi sepanjang tahun (Supar, 2001).

Pemberian antibakteri merupakan salah satu pilihan dalam menangani infeksi kolibasilosis. Masalah yang kemudian muncul dari penggunaan antibakteri adalah residu obat pada daging. Residu antibakteri pada produk ternak dapat

menimbulkan resistensi bakteri, masalah dalam pengolahan produk asal daging, dan gangguan kesehatan bagi konsumen (Gavalov *et al.*, dalam Soeripto 2002). Selain hal tersebut, banyaknya terjadi kasus bakteri yang resisten terhadap antibakteri dan harga obat antibakteri yang relatif mahal. Terjadinya resistensi ini disebabkan karena penggunaan obat yang tidak terkontrol sehingga obat tersebut tidak mampu menghambat atau membunuh bakteri yang bersangkutan, akibatnya pengobatan akan sia-sia (Besung, 2009).

Oleh karena itu, resistensi terhadap antibakteri menjadi masalah, sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berasal dari tanaman yang dapat membunuh bakteri untuk menghindari terjadinya resistensi seperti dalam penggunaan antibakteri. Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan sebagai obat antibakteri adalah “Binahong” (*Anredera cordifolia* (Tenore) *steenis*) (Setiaji, 2009). Selain mudah di dapat dan harganya yang cukup murah, tanaman binahong ini memiliki khasiat menghambat beberapa penyakit, diantaranya tersebut mikroorganisme (Yuswantina, 2009).

MATERI DAN METODE

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah : 20 helai daun teratas binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) *Steen*) yang diperoleh dari (Dusun : Banjar Payangan Desa, Desa : Melinggih, Kecamatan: Payangan, Kabupaten : Gianyar) lokasi yang memiliki ketinggian 750 meter dari permukaan laut, diambil seberat 354,82 gr, media kultur selektif Mac Conkey, Mueller-Hintomn Agar, NaCl Fisiologis 0,9%, Aquades, pepton 0,1%, isolat bakteri *Escherichia coli* yang digunakan kode ATCC (American Type Culture Colection) 25922 didapat dari Laboratorium Daerah, kertas cakram kosong sebanyak 50 cakram dan antibiotika dalam bentuk kertas cakram tunggal yang mengandung Oksitetrasiklin dengan kadar konsentrasi 30 µg sebagai kontrol positif (untuk kontrol positif akan diletakkan di tengah-tengah dari media agar, yang berfungsi sebagai kontrol bakteri yang di tanam apakah benar terhambat atau tidak dan sebagai pembanding untuk perlakuan lain).

Variable yang diamati adalah besarnya diameter daya hambat binahong (satuan mm) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Tingkat potensi binahong hanya

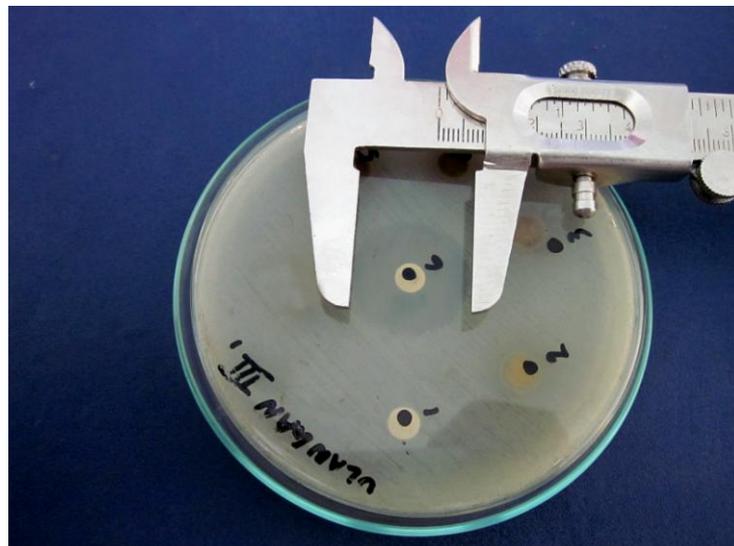
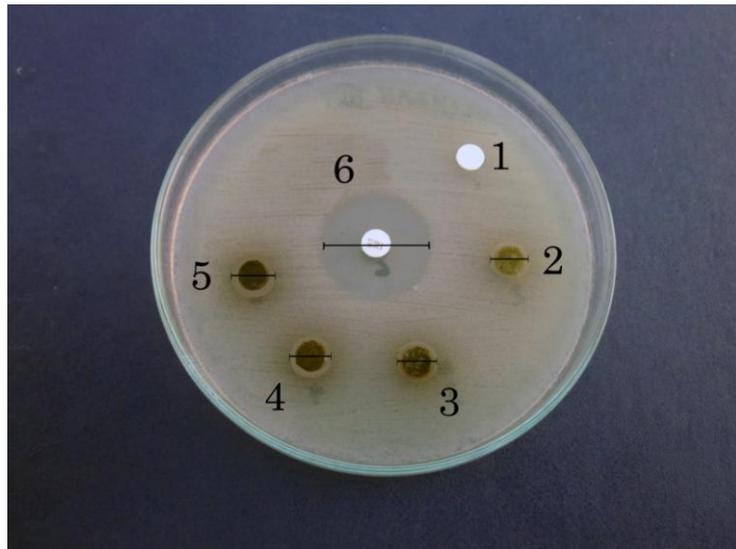
bisa dibandingkan berdasarkan besarnya diameter daya hambat yang terbentuk pada tiap-tiap konsentrasi, dengan hambatan yang tampak sebagai daerah yang tidak memperlihatkan pertumbuhan kuman disekitar kertas cakram. Yang menjadi acuan ialah jika semakin besar diameter terbentuk maka semakin baik daya hambat terhadap *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan binahong belum ada standar daya hambat untuk menentukan apakah resisten, intermediate atau sensitif.

Pengumpulan data dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi, dilakukan dengan cara mengukur diameter (satuan mm) daya hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi perlakuan. Karena menggunakan duplo, pada masing-masing pengulangan dirata-ratakan ukuran diameter daya hambat untuk setiap perlakuannya.

Data hasil penelitian yang diperoleh, akan diuji dengan Analisis Deskriptif, Analisis Ragam (Uji F) dan dilanjutkan dengan Uji Duncan kemudian dilanjutkan pengolahan data untuk menentukan Analisis Regresi yang bertujuan untuk mencari pengaruh antara konsentrasi daun binahong dengan daya hambat *Escherichia coli* ATCC 25922 yang terbentuk. Dan semua data diolah menggunakan program SPSS.

HASIL

Hasil pengukuran diameter daya hambat yang ditimbulkan perasan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam konsentrasi (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) dan NaCl Fisiologis 0,9% sebagai kontrol negatif dapat dilihat pada gambar dan tabel berikut.



Gambar hasil daya hambat dan cara pengukurannya

- Keterangan :
1. Konsentrasi 0% (Kontrol negatif, NaCl Fisiologis)
 2. Konsentrasi 25%
 3. Konsentrasi 50%
 4. Konsentrasi 75%
 5. Konsentrasi 100%
 6. Oksitetrasiklin 30 μ g (Kontrol positif), d = 23,4 mm

Tabel Analisis deskriptif rata-rata diameter daya hambat perasan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis).

Report

Daya hambat (mm)

Konsentrasi binahong	Mean	N	Std. Deviation
0	.000	4	.0000
25	7.225	4	.0957
50	8.325	4	.0957
75	10.125	4	.0957
100	12.325	4	.0957
Total	7.600	20	4.2835

Data hasil perhitungan rata-rata diameter daya hambat yang ditimbulkan oleh perasan daun binahong dalam konsentrasi 0%; 25%; 50%; 75%; 100% kemudian di analisis secara statistik dengan *Uji Analisis Ragam*. Hasil analisis ragam disajikan dalam tabel berikut.

Tabel Analisis ragam diameter daya hambat perasan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis).

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Daya hambat (mm)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	348,510 ^a	4	87,128	11881,023	,000
Intercept	1155,200	1	1155,200	157527,3	,000
K	348,510	4	87,128	11881,023	,000
Error	,110	15	,007		
Total	1503,820	20			
Corrected Total	348,620	19			

a. R Squared = 1,000 (Adjusted R Squared = 1,000)

Berdasarkan hasil analisis ragam tersebut maka dapat dinyatakan bahwa perasan daun binahong memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan terbentuknya daya hambat di sekitar kertas cakram yang berisi hasil perasan daun binahong. Hal ini dapat diperhatikan dari signifikan 0.00 ($P < 0,01$).

Analisis lebih lanjut mengenai perbedaan antara diameter daya hambat yang ditimbulkan perasan daun binahong dalam beberapa konsentrasi dilanjutkan dengan menggunakan *Uji Duncan* yang hasil dari perhitungannya dapat dilihat pada tabel

Tabel Hasil uji Duncan antara diameter daya hambat dengan perasan daun binahong (*Anredera cordifolia (Tenore) Steenis*) dalam beberapa konsentrasi.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Daya hambat (mm)

	(I) Konsentrasi binahong (%)	(J) Konsentrasi binahong (%)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
LSD	0	25	-7,225*	,0606	,000
		50	-8,325*	,0606	,000
		75	-10,125*	,0606	,000
		100	-12,325*	,0606	,000
	25	50	-1,100*	,0606	,000
		75	-2,900*	,0606	,000
		100	-5,100*	,0606	,000
	50	75	-1,800*	,0606	,000
		100	-4,000*	,0606	,000
	75	100	-2,200*	,0606	,000

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Tabel menunjukkan bahwa kertas cakram konsentrasi **0%** memiliki perbedaan yang sangat nyata dengan kertas cakram yang berisi perasan daun binahong dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% yang dapat dilihat dari signifikan 0,00 ($P < 0,01$). Sama halnya dengan konsentrasi **25%** memiliki perbedaan yang sangat nyata dengan kertas cakram yang berisi perasan daun binahong dengan konsentrasi (50%, 75%, 100% dan NaCl fisiologis 0%), konsentrasi **50%** memiliki perbedaan yang sangat nyata dengan kertas cakram yang berisi perasan daun binahong dengan konsentrasi (25%, 75%, 100% dan NaCl fisiologis 0%), konsentrasi **75%** memiliki perbedaan yang sangat nyata dengan kertas cakram yang berisi perasan daun binahong dengan konsentrasi (25%, 50%, 100% dan NaCl fisiologis 0%), dan konsentrasi **100%** memiliki perbedaan yang sangat nyata dengan kertas cakram yang berisi perasan daun binahong dengan konsentrasi (25%, 50%, 75% dan NaCl fisiologis 0%) yang dapat dilihat dari signifikan 0,00 ($P < 0,01$).

Setelah di dapat nilai dari analisis ragam serta uji duncan, kemudian dapat dilanjutkan pengolahan data dalam SPSS untuk menentukan *Analisis Regresi* yang bertujuan untuk mencari pengaruh antara konsentrasi daun binahong (**K**) dengan daya hambat *Escherichia coli* ATCC 25922 (**Y**) yang terbentuk.

Tabel Hasil uji Analisis Ragam antara diameter daya hambat dengan perasan daun binahong (*Anredera cordifolia (Tenore) Steenis*).

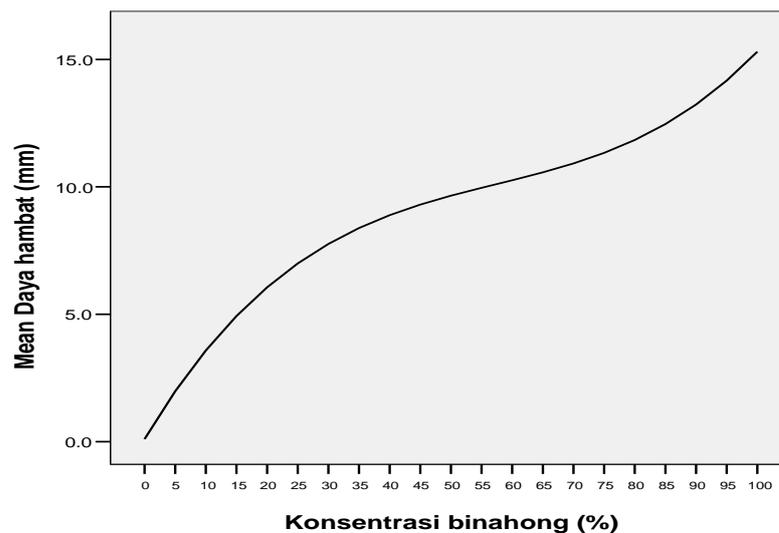
Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,996 ^a	,991	,990	,4338

a. Predictors: (Constant), KKK, Konsentrasi binahong (%), KK

Dari tabel di atas maka diperoleh pengertian bahwa diameter daya hambat berhubungan sangat erat ($R = 0,996$) dengan perasan daun binahong (*Anredera cordifolia (Tenore) Steenis*).

Untuk hal tersebut maka didapatkan persamaannya dengan memasukkan data dalam SPSS sehingga bentuk persamaannya $Y = 0.102 + 0.404K - 0.006K^2 + 0.0000348K^3$. Dengan persamaan tersebut kemudian dapat digambar dengan SPSS sehingga diperoleh grafik sebagai berikut



Gambar Grafik pengaruh antara konsentrasi daun binahong (*Anredera cordifolia (Tenore) Steenis*) (**K**) dengan diameter daya hambat *Escherichia coli* ATCC 25922 (**Y**) yang terbentuk.

Gambar menunjukkan bahwa meningkatnya konsentrasi perasan daun binahong (*Anredera cordifolia (Tenore) steenis*). Maka akan meningkatkan pula diameter daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro.

PEMBAHASAN

Identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922

Isolat *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan American Type Culture Collection yang dipergunakan sebagai organisme kontrol laboratorium dengan hasil standard yang nantinya dalam penggunaan *Escherichia coli* ATCC 25922 terhadap antibiotika golongan tetrasiklin (oksitetrasiklin) 30 µg menghasilkan diameter daya hambat sebesar 18-25 mm (Ocudox, 2011). ATCC 25922 merupakan bakteri patogen yang mewakili gram negatif dan sering digunakan dalam berbagai penelitian. Hal ini dikarenakan bakteri patogen tersebut sering ditemukan dalam saluran pencernaan atau lingkungan terkontaminasi feses yang mengandung *Escherichia coli* (Khan & Wiyana, 2011). Selain itu, menurut Sudarmaji (1996) bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menyebabkan gangguan saluran pencernaan yang ditandai dengan diare.

Uji Hambatan

Dalam penelitian ini menggunakan *Uji Difusi*, yaitu Cakram kertas yang diresapi perasan daun binahong dalam jumlah tertentu, diletakkan pada media agar yang telah ditanami organisme uji secara merata. Suatu gradien konsentrasi zat antimikroba yang terbentuk oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat pada suatu jarak dari cakram yang terkait dengan kepekaan organisme, di samping faktor-faktor lain (WHO, 2003).

Kertas Cakram kosong dengan merek dagang *Oxoid* yang direndam dengan NaCl Fisiologis 0,9% tidak mampu menimbulkan daya hambat karena NaCl Fisiologis tidak memiliki zat aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri khususnya *Escherichia coli*. Kertas cakram yang mengandung NaCl Fisiologis digunakan sebagai kontrol negatif untuk memastikan bahwa alat-alat dan bahan yang digunakan dalam membuat konsentrasi dalam kertas cakram serta NaCl Fisiologis yang digunakan sebagai pengencer konsentrasi perasan daun binahong tidak mengandung zat anti bakteri. Berbeda halnya dengan kertas cakram yang berisi perasan daun binahong dalam beberapa konsentrasi, yakni 25%; 50%; 75% dan 100% mampu menimbulkan daya hambat.

Kontrol positif Antibiotika dalam bentuk kertas cakram tunggal yang mengandung Oksitetrasiklin dengan kadar konsentrasi 30 µg sebagai kontrol positif yang berfungsi sebagai kontrol bakteri yang di tanam dan sebagai pembanding untuk perlakuan lain. Dengan hasil perhitungan diameter daya hambat yang terbentuk terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar (23,4 mm) yang dapat dilihat dari standar yang menyatakan jika diameter ≥ 19 maka antibiotik Oksitetrasiklin sensitif atau peka terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 (Rao, 2011). Hal ini juga di dukung dengan data sebelumnya bahwa, antibakteri yang efektif untuk mengobati diare yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* adalah golongan tetrasiklin (Teale *et al.*, 2003).

Daya hambat dapat terbentuk karena dari hasil penelitian-penelitian yang sudah ada dinyatakan bahwa pada kultur *in vitro* daun binahong terkandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, terpenoid dan saponin. Seperti penelitian Rochani (2009), melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan uji fitokimia ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavonoid. Kemampuan binahong untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit ini berkaitan erat dengan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme bakteri (Manoi & Balitro, 2009). Selain hal tersebut senyawa lain seperti alkaloid, saponin, dan terpenoid juga merupakan senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri (Robinson, 1995).

Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakterilisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Ganiswarna, 1995).

Flavanoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, menthanol, butanol, dan aseton (Markham, 1998). Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Khunaifi (2010) menambahkan bahwa senyawa-senyawa flavanoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Senyawa flavanoid dan turunannya memiliki dua fungsi fisiologi tertentu, yaitu sebagai bahan kimia untuk mengatasi serangan penyakit (sebagai antibakteri) dan anti virus bagi tanaman. Para peneliti lain juga menyatakan pendapat sehubungan dengan mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Sabir, 2008). Didukung juga dengan penelitian Mirzoeva *et al.*, (1997) mendapatkan bahwa flavonoid mampu menghambat motilitas bakteri.

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai 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).

Terpenoid yang terkandung dalam tumbuhan biasanya digunakan sebagai senyawa aromatic yang menyebabkan bau pada *eucalyptus*, pemberi rasa pada kayu manis, cengkeh, jahe dan pemberi warna kuning pada bunga. Terpenoid tumbuhan mempunyai manfaat penting sebagai obat tradisional, anti bakteri, anti jamur dan gangguan kesehatan (Thomson, 1993). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004).

Adapun faktor-faktor teknis yang mempengaruhi ukuran daya hambat pada metode difusi cakram, antara lain : kepekatan inokulum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi, ukuran lempeng, ketebalan media agar, dan pengaturan jarak cakram antimikroba, potensi cakram antimikroba, komposisi media (WHO, 2003).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang ada dan analisis data secara statistik, maka dapat disimpulkan bahwa : Perasan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) steenis) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Dan meningkatnya konsentrasi perasan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) steenis) meningkatkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

SARAN

Saran yang dapat disampaikan oleh penulis dalam penulisan ini ialah : untuk dapat memanfaatkan daun binahong sebagai obat, perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut lagi secara *in vivo* untuk mengetahui penerapan obat dalam tubuh penderita maupun pengujian yang lebih intensif terhadap konsentrasi terbaik yang dapat digunakan sebagai terapi untuk penyakit kolibasilosis karena meskipun konsentrasi (100%) dapat menimbulkan daya hambat paling besar pada *Escherichia coli*, namun belum dapat dipastikan bahwa konsentrasi tersebut yang paling efektif. Selain itu, penelitian ini dapat dilanjutkan dengan metode evaporasi, untuk mendapatkan hasil daya hambat yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. Bioscientie, Vol 1 No.1. Hal : 31-8.
- Besung, I N.K. 2009. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kunyit Pada Anak Babi Yang Menderita Colibacillosis*. Terdapat pada <http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/kerta%20besung%20120302009.pdf>. Diakses tanggal 20 Januari 2011.
- Besung, I N.K. 2010. *Kejadian Kolibasilosis Pada Anak Babi*. Terdapat pada <http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/kerta%20besung%20130102010.pdf>. Diakses tanggal 20 Januari 2011.
- Disnak. 2010. *Data Cacah Jiwa Ternak Tahun 2010*. Badung : Pemerintah Kabupaten Badung Dinas Peternakan, Perikanan Dan Kelautan.
- Dorland & Newman, W. A. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland Edisi 29*. Jakarta: EGC.
- Ganiswarna, S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Penerbit UI : Jakarta.
- Ginns, C. A. 2000. *Colonization o the Respiratory Tract by a Virulent Strain of Avian Escherichia coli Requires carriage of a Conjugative Plasmid. Infection and Immunity*. Vol 3(68). Hal 1535-1541. Terdapat pada <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Diakses tanggal 19 Maret 2011.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. edisi 23. Alih Bahasa: Huriwati Hartanto dkk. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Khan, M. S. Dan Wiyana, A. 2011. *Karakteristik Ketahanan Bakteri Asam Laktat Indegenous Kefir Sebagai Kandidat Bakteri Probiotik Pada Kondisi Saluran Pencernaan In Vitro*. Terdapat pada <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/44032/PKM-AI-11-IPB-M.%20Sarwar-Karakteristik%20Ketahanan%20Bakteri.pdf?sequence=1>. Diakses pada tanggal 17 Mei 2011.
- Khunaifi, M. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) steenis) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Pseudomonas Aeruginosa*. Terdapat pada <http://lib.uin-malang.ac.id/fullchapter/03520025.pdf>. Diakses pada tanggal 13 Maret 2011.
- Manoi, F. & Balitro. 2009. *Binahong (Anredera Cordifolia) Sebagai Obat*. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Markham, K.R.1998. *Cara mengidentifikasi flavanoid*. Bandung: penerbit ITB

- Mirzoeva O.K., Grishanin R.N., Calder P.C. 1997. *Microbiol Res : Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential, and motility of bacteria*. 152:239-46.
- Ocudox. 2011. (*Doxycycline Hyclate 50 mg, 60 Capsules, USP*). Terdapat pada <http://www.ocusoft.com/media/upload/file/Ocudox%20PI.pdf>. Diakses pada tanggal 26 Mei 2011.
- Perda. 2008. *Usaha Peternakan Dan Pemeliharaan Ternak*. Parepare : Peraturan Daerah Kota Parepare. No 12. Terdapat pada <http://djpp.depukumham.go.id/files/ld/2008/parepare12-2008.pdf>. Diakses pada tanggal 24 Maret 2011.
- Rao, S. 2011. *Zone Of Inhibitions For Various Antibiotics-Kirby Bauer Disk Diffusion*. Terdapat pada http://www.microrao.com/micronotes/pg/kirby_bauer.pdf. Diakses pada tanggal 7 April 2011.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi keenam. Terjemahan Padmawinata K. Penerbit ITB : Bandung.
- Rochani, N. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Surabaya : Fakultas Farmasi UMS Surakarta.
- Sabir, A. 2008. *In Vitro Antibacterial Activity Of Flavonoids Trigona Sp Propolis Against Streptococcus Mutans*. Terdapat pada <http://www.journal.unair.ac.id/filerPDF/DENTJ-38-3-08.pdf>. Diakses pada tanggal 16 Maret 2011.
- Setiaji, A. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat Dan Etanol 70% Rhizoma Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steen) Terhadap Staphylococcus Aureus Atcc 25923 Dan Escherichia Coli Atcc 11229 Serta Skrining Fitokimianya*. Terdapat pada <http://etd.eprints.ums.ac.id/5253/1/K100050288.pdf>. Diakses pada tanggal 20 Januari 2011.
- Soeripto. 2002. Penerapan Konsep Kesehatan Hewan Melalui Vaksinasi. *Jurnal Litbang Pertanian*. Vol 21(2). Hal 48-55. Terdapat pada <http://pustaka.litbang.deptan.go.id/publikasi/p3212022.pdf>. Diakses pada tanggal 11 Maret 2011.
- Sudarmaji. 1996. *Piper cubeba l. Uji daya antibakteri komponen minyak atsiri buah kemukus terhadap staphylococctts aureus dan escherichia coli dengan cara biogram*. No 487. Terdapat pada http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/pt/buku10.pdf. Diakses pada tanggal 17 Mei 2011.

- Supar. 1999. Pengembangan Vaksin Escherichia Coli Enterotoksigenik Galur Lokal Dan Aplikasinya Untuk Pencegahan Diare Dan Kematian Anak Babi Dan Sapi. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Vol 18(4). Hal 136-142. Terdapat pada http://pustaka.litbang.deptan.go.id/abstrak/abstrak_sapi.pdf. Diakses pada tanggal 20 Januari 2011.
- Supar. 2001. *Pemberdayaan Plasma Nutfah Mikroba Veteriner dalam Pengembangan Peternakan: Harapan Vaksin Escherichia coli Enterotoxigenic, Enteropatogenik dan Verotoksigenik ocal e ocal untuk Pengendalian Kolibasilosis Neonatal pada Anak Babi dan Sapi*. Wartazoa. Vol 11. Hal 33-43.
- Teale, C.J. Martin, P.K., Watkins, G.H. 2003. *Antimicrobial Sensitivity*. VLA Report. St Clements House. 2-16 Colegate. Norwich Pp. 1-73
- Thomson, R.H. 1993. *The Chemistri Of Natural Producest*. 2 Edition, Chapman and hall ltd.glasgow,UK.
- WHO. 2003. *Basic Laboratory Procedures In Clinical Bacteriology, 2nd Ed*. Terdapat pada http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241545453_ind.pdf. Diakses pada tanggal 6 April 2011.
- Yuswantina, R. 2009. *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Dari Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat Dan Etanol Rhizoma Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steen) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil)*. Terdapat pada <http://etd.eprints.ums.ac.id/5283/1/K100050315.pdf>. Diakses pada tanggal 21 Januari 2011.