

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIFITAS ANTIBIOTIKA EKSTRAK ETANOL  
DAUN, BATANG, BUNGA DAN UMBI TANAMAN BINAHONG (*Anredera cordifolia*  
(Ten) Steenis)**

**SRI MURNI ASTUTI**

*Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH), Gunungsindur – Bogor,  
Indonesia, 16340*

*dan Fakulti Kejuteraan Kimia dan Sumber Asli (Bioproses), Universiti Malaysia Pahang,  
Kuantan – Pahang, Malaysia, 26300*

**ABSTRAK**

Telah dilakukan uji aktifitas antibiotika terhadap ekstraksi etanol tanaman binahong dengan perbandingan 1:10, dengan menggunakan cara perendaman (maserasi) selama 5 hari. Kemudian dilakukan skrining fitokimia terhadap senyawa fenolik, flavonoid, saponin, dan alkaloid tanaman binahong dengan menggunakan metode kualitatif dan spektrofotometer, termasuk uji skrining antibiotika. Dalam mekanisme uji biologi menggunakan spora dari *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus steroothermophylus* var *calidolactis* C.953, dan bakteri *Micrococcus luteus* ATCC 9341. Uji aktifitas antibiotika menunjukkan adanya aktifitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Bacillus sterootherophylus* dari ekstrak daun, batang, bunga dan umbi tanaman binahong. Selain itu, ekstrak binahong mampu menghambat aktifitas mikroorganisme yang serupa seperti pada mekanisme kerja antibiotika golongan penisilin (PC) dan tetrasiklin (TC). Sebagai perbandingan digunakan ekstrak air dan etanol dari kapsul binahong yang dijual secara komersial dan menunjukkan hasil yang sama. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tanaman binahong mengandung senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid dan saponin yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antibakteri dengan aktifitas seperti golongan antibiotik tetrasiklina dan penisilina.

**Kata kunci: Tanaman Binahong, ekstrak etanol, metabolit sekunder, dan aktifitas antibiotika**

**ABSTRACT**

*The antibiotic activity has been tested against ethanol extraction of binahong plant with 1:10 ratio, using the maceration method for 5 days. The phytochemical screening was then performed to the compounds of phenolic, flavonoid, saponin and alkaloid from binahong plant, using qualitative and spectrometry methods and also for the screening of antibiotics. Spores of *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus steroothermophylus* var *calidolactis* and bacteria *Micrococcus luteus* ATCC 9341 were used for mechanism of biological assay The antibiotic activity resulted antibacteria activity against *Bacillus cereus* dan *Bacillus**

*stereotherophylus from extracts of leaves, stems, flowers and roots of binahong plants. Moreover, binahong extract was able to inhibit microorganism activity similar to peniciline (PC) and tetracycline (TC) antibiotic group activities. As a comparison, water and ethanol extracts obtained from binahong capsules, that are sold commercially showed the similar results. From this study, it can be concluded that the binahong contained phenolic, flavonoids, alkaloids and saponins compound from the secondary metabolites of binahong, is known having antibacterial acitivity similar to group of penicillin and tetracycline antibiotics.*

**Key words: Binahong plant, methanol extract, secondary metabolites and antibiotic activity**

## PENDAHULUAN

Antibiotika adalah metabolit sekunder atau substansi kimia yang diperoleh dari mikroorganisma maupun produk sintesis, dimana pada dosis atau konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan dan ketahanan dari mikroorganisma tanpa efek toksik yang serius pada inang <sup>(6,11,24)</sup>. Selain itu telah ditemukan antibiotika yang berasal dari kandungan senyawa tanaman. Tanaman merupakan sumber yang sangat penting untuk menemukan antimikroba <sup>(18)</sup>.

Binahong (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) atau dalam bahasa Tiongkok dikenal dengan nama *Dheng San Chi* adalah tanaman obat, asli dari Amerika Selatan. Tanaman ini telah dikenal memiliki khasiat penyembuhan yang luar biasa oleh sebab itu digunakan sebagai obat tradisional. Secara empiris, masyarakat di pulau Jawa memanfaatkan untuk membantu proses penyembuhan beragam penyakit, termasuk untuk mengobati luka sehabis operasi *Caesar* atau memulihkan tenaga ibu setelah bersalin. Akar dan daun tanaman binahong bermanfaat sebagai obat penyembuh luka bekas operasi, penyakit tipus, radang usus, asam urat, disentri dan wasir <sup>(23)</sup>. Menurut Manoi (2009), zat bioaktif dalam tanaman binahong dapat membantu proses penyembuhan penyakit-penyakit degeneratif seperti kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, strok, wasir dan asam urat. Dalam penelitian lain tanaman binahong dapat mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri, bahkan ekstrak daun dan umbi binahong dapat mengobati infeksi penyakit kelamin seperti penyakit syphilis <sup>(25)</sup>. Tanaman binahong mengandung fenol, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid, selain itu memiliki aktifitas sebagai antioksidan <sup>(2,3)</sup>.

Senyawa fenolik dan flavonoid termasuk dalam metabolit sekunder dari tanaman yang mempunyai aktifitas biologi dan terdiri dari 8000 macam senyawa <sup>(14)</sup>. Senyawa ini dapat berperan langsung sebagai antibiotika dengan mekanisme kerja menghancurkan sel dinding

bakteri <sup>(13)</sup>. Fenolik dan flavonoid juga memiliki aktifitas sebagai antioksidan. Metabolit sekunder lainnya adalah saponin yang memiliki aktifitas pada permukaan. Tanaman binahong memiliki kandungan senyawa saponin yang lebih besar dari pada senyawa lainnya, terutama pada umbi. Saponin termasuk senyawa glikon (gula) dan senyawa aglikon, adapun senyawa aglikon adalah termasuk golongan steroid dan terpenoid <sup>(2)</sup>. Senyawa terpenoid adalah senyawa hidrokarbon isometrik yang membantu proses sintesa organik dan pemulihan sel-sel tubuh. Saponin mempunyai fungsi menurunkan kolesterol karena mempunyai aktifitas sebagai antioksidan <sup>(13)</sup>.

Aktifitas antibiotika dan analisa dari fitokimia pada penelitian ini menggunakan metode kualitatif yaitu dengan uji skrining ekstrak etanol dari daun, batang, bunga dan umbi tanaman binahong dan dibandingkan dengan ekstrak kapsul binahong yang dijual secara komersial. Ekstrak kapsul menggunakan dua larutan yaitu air dan etanol. Metode ekstraksi yang digunakan adalah dengan perendaman (maserasi) selama 5 hari. Perendaman ini termasuk ekstraksi yang dingin sehingga tidak merusak kandungan senyawa tanaman binahong <sup>(1,8)</sup>. Penelitian uji aktifitas antibiotika ekstrak etanol pada tanaman binahong di Indonesia belum terdokumentasi dengan baik.

## **MATERI DAN METODE**

### **Persiapan Bahan Uji:**

Daun, batang, bunga dan umbi tanaman binahong dipanen setelah musim berbunga pada bulan Agustus. Tanaman binahong tersebut telah diidentifikasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Pusat Penelitian Biologi dengan No: 1022. Selanjutnya sampel uji dari tanaman binahong tersebut dicuci dibawah air keran yang mengalir, setelah ditiriskan sebagian bahan uji sampel segar dianalisa secara kualitatif untuk skrining fitokimia dan sebagian dikeringkan dengan oven 60°C, selama 24 jam, kemudian dibuat serbuk <sup>(8)</sup>.

### **Metode Ekstrak Maserasi**

Sampel uji dari tanaman binahong (serbuk) diekstaksi secara maserasi (perendaman), dengan perbandingan 1:10 yaitu 1 bagian serbuk sampel binahong direndam dalam 10 bagian larutan

etanol. Maserasi dilakukan selama 5 hari dalam wadah berbahan gelas yang bermulut lebar dan setiap hari dikocok beberapa menit, kemudian disaring dengan kertas saring Whatman <sup>(2,23)</sup>.

## **Skrining Fitokimia (Kualitatif)**

### **Uji Fenolik**

Tambahkan ke dalam larutan sampel beberapa tetes larutan besi (III) klorida 1%. Adanya senyawa kelompok fenol ditandai dengan munculnya warna hijau, merah, ungu atau hitam <sup>(8)</sup>.

### **Uji Flavonoid**

Satu gram sampel diekstraksi dengan 5 ml etanol kemudian tambahkan beberapa tetes HCl pekat dan 1,5 gram logam magnesium. Adanya flavonoid, diindikasikan dari terbentuknya warna *pink* atau merah magenta dalam waktu 3 menit <sup>(17)</sup>.

### **Uji Saponin**

Kurang lebih 2 gram serbuk sampel dilarutkan dengan 20 ml *aquadest*. Didihkan menggunakan penangas air, kemudian saring menggunakan kertas saring. Campurkan 10 ml filtrat dengan 5 ml *aquadest* dan kocok hingga terbentuk busa stabil. Tambahkan *olive oil* dan kocok dengan keras, adanya saponin ditandai dengan terbentuknya emulsi yang stabil <sup>(5)</sup>.

### **Uji Steroid**

Tambahkan asam asetat anhidrat 2 ml pada 0,5 ekstrak etanol. Kemudian tambahkan 2 ml asam sulfat pekat. Adanya steroid ditandai dengan perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau <sup>(5)</sup>.

### **Uji Terpenoid**

Campur 5 ml ekstrak dengan 2 ml kloroform. Kemudian tambahkan dengan hati-hati 3 ml asam sulfat pekat. Terbentuknya warna coklat kemerahan pada permukaan dalam larutan, menunjukkan adanya terpenoid <sup>(5)</sup>.

### **Uji Alkaloid**

Tambahkan 5 ml HCl 2 M ke dalam 20 gram ekstrak, aduk dengan sedikit pemanasan selama 5 menit. Tambahkan 0,5 gram NaCl, aduk dan saring, setelah itu tambahkan HCl 0.2 M, untuk membilas filter. Pekatkan filtrat sampai memperoleh volume 5 ml. Masukkan filtrat pada 2 tabung reaksi kecil, masing-masing 1 ml. Tabung 1 diberi pereaksi *Mayer* dan tabung 2 diberi pereaksi *Wagner*, amati terjadinya kekeruhan dan endapan <sup>(22)</sup>.

Untuk menentukan adanya senyawa fenolik dan flavonoid sebagai konfirmasi, gunakan uji kuantitatif dengan alat Spektrofotometer UV.

### **Uji Kuantitatif Kandungan Fitokimia**

#### **Fenol (*Folin-Ciocalteu Method*)**

##### **Reagen**

- a. Reagen *Folin-Ciocalteu* 50% (botol ditutup dengan aluminium *foil*), gunakan dalam keadaan segar
- b. Natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 2 %
- c. Standar *Galic acid* (dalam kurva: 0 – 200 mg/l)

##### **Metode**

Larutkan 0,1 gram sampel serbuk dalam 1 ml *aquadest* (filtrat), kemudian tambahkan 0,1 ml filtrat tersebut ke dalam 2,8 ml aquades. Tambahkan 2 ml larutan natrium karbonat 2% dan tambahkan 0,1 ml reagen *Folin-Ciocalteu* 50%. Inkubasikan dalam suhu kamar selama 30 menit. Baca absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm dan gunakan, *aquadest* sebagai blanko standar. Data diekspresikan dalam milligram *Gallic Acid Equivalent* (GAE/100 g). Lakukan pengujian ini sebanyak 3 kali <sup>(15)</sup>.

#### **Flavonoid (*Aluminum chloride method*)**

##### **Reagen**

- a. Aluminium klorida heksahidrat ( $\text{AlCl}_3$ ) 10 %
- b. Alkohol 95%
- c. Kalium asetat ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$ )
- d. Quersetin standar (dalam kurva: 0-50 mg/l)

##### **Metode**

Larutkan 0,1 gram sampel serbuk dalam 1 ml *aquadest*. Campurkan 0,5 ml larutan sampel dengan 1,5 ml alkohol 95%. Tambahkan 0,1 ml  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,1 ml  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$  1 M dan tambahkan 2,8 ml aquades. Inkubasikan dalam suhu kamar selama 30 menit. Baca absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 415 nm dan gunakan *aquadest* sebagai blanko standar. Data diekspresikan dalam milligram *Quersetin Equivalent* (QE/100 g). Lakukan pengujian ini sampai 3 kali <sup>(4)</sup>.

## Uji Skrining antibiotika

### Persiapan

- a. Sampel dari ekstrak daun, batang, bunga dan umbi binahong dalam bentuk filtrat etanol dan sampel ekstrak kapsul binahong dalam larutan air dan etanol. Kentalkan dengan menggunakan alat evaporator dan kemudian encerkan dengan ethanol dengan perbandingan 1:10<sup>(3)</sup>.
- b. Spora dari *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus stereothermophylus var calidolactis* C.953 NIZO dan bakteri *Micrococcus luteus* ATCC 9341<sup>(1)</sup>.
- c. Media-media untuk mengetahui adanya aktifitas dari spora-spora uji terhadap golongan antibiotika yaitu: media NV-10 untuk *Bacillus cereus* ATCC 11778, media NV-8 untuk *Bacillus subtilis* ATCC 6633, media NV-4 untuk *Micrococcus luteus* ATCC 9341<sup>(1,10)</sup>.
- d. Larutan dapar fosfat pH  $6,0 \pm 0,05$ , dengan baku pembanding grup antibiotika Penicillin (PC), Tetrasiklin (TC), Aminoglikosida (AG) dan Mikrolida (ML)<sup>(1)</sup>.

## Uji penetapan kandungan antimikroba/antibiotika

### Antibiotika Golongan Penicillina

Di atas cawan petri yang telah berisi media agar bakteri uji *Bacillus stereothermophylus var calidolactis* C953 diletakkan *paper disk* (kertas cakram) yang ditetesi larutan ekstrak tanaman binahong dan kapsul binahong. Sebagai kontrol, tetesi *paper disk* dengan larutan baku pembanding dari golongan penisilina. Inkubasikan pada suhu 55°C selama 20–24 jam. Jika disekitar *paper disk* tidak terlihat zona hambatan  $\leq 2$  mm maka dinyatakan negatif, jika ada zona hambatan  $\geq 2$  mm maka dinyatakan positif memiliki aktifitas dari golongan penisillina<sup>(1,10)</sup>.

### Antibiotika golongan tetrasiklina, aminoglikosida dan makrolida

Larutkan media NV-4, NV-8, dan NV-10 pada suhu 100°C, kemudian dinginkan sampai suhu 56°C. Inokulasikan media NV-10 dengan *Bacillus cereus* ATCC 11778, media NV-8 dengan *Bacillus subtilis* ATCC 6633, dan media NV-4 dengan *Micrococcus luteus* ATCC9341. Masukkan media yang sudah diinokulasi ke dalam cawan petri sebanyak 25 ml, diamkan sampai dingin. Letakkan *paper disk* (kertas cakram) berisi sampel ekstrak tanaman binahong dan kapsul

binahong. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 20-24 jam. Ukur daerah hambatan. Golongan antibiotika pada ekstrak binahong dapat diketahui berdasarkan besarnya daerah hambatan, strain bakteri dan media yang digunakan <sup>(1,10)</sup>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil analisa Fitokimia

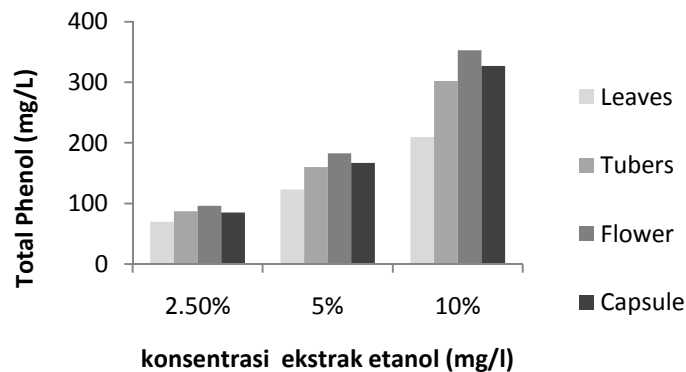
Hasil uji dari fitokimia ekstrak daun, batang, bunga dan umbi tanaman Binahong menunjukkan bahwa terdapat senyawa bioaktif pada daun, batang, bunga dan umbi adalah mengindikasikan adanya senyawa fenol, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid dan alkaloid sebagaimana dalam Tabel 1.

Tabel 1. Analisa Senyawa Fitokimia Pada Tanaman Binahong

No	Senyawa	Daun	Batang	Bunga	Umbi	Pengamatan
1	Fenol	+	+	+	+	Endapan kemerahan
2	Flavonoid	+	+	+	+	Larutan warna pink-merah
3	Saponin	+	+	+	+	Busa permanen
4	Terpenoid	+	+	+	+	Warna coklat kemerahan, diantara permukaan
5	Steroid	+	+	+	+	Warna coklat kemerahan / hijau-kebiruan pekat
6	Alkaloid	+	+	-	+	Kekeruhan dan endapan

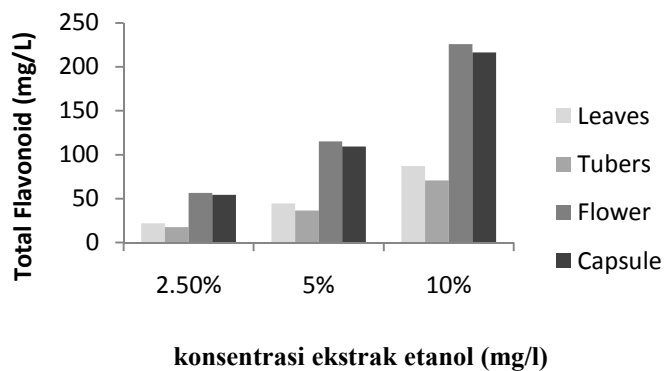
Keterangan: +/positif ada indikasi senyawa bioaktif dan -/ negatif tak ada indikasi senyawa bioaktif

Senyawa saponin, terpenoid, dan steroid pada tanaman binahong menunjukkan reaksi kimia yang sangat kuat dan jelas. Tanaman binahong juga mengandung alkaloid, fenol, dan flavonoid. Kandungan senyawa flavonoid pada bunga tampak lebih kuat dari pada daun, batang dan umbi, menandakan bunga lebih banyak mengandung senyawa total fenol, dan flavonoid. Selanjutnya untuk menetapkan kandungan senyawa fenol dan flavonoid dilakukan analisa kuantitatif dengan alat Spektrofotometer UV.



Gambar.1. Analisa Total Fenol Dalam Ekstrak Etanol. *Leaves* (daun); *tubers* (umbi); *flower* (bunga); *Capsule* (kapsul binahong). Kandungan fenol pada bunga paling tinggi, kemudian kapsul, umbi, dan terakhir daun.

Dari hasil uji kuantitatif, kandungan senyawa bioaktif fenol pada bunga dalam merupakan yang paling banyak, diikuti kapsul binahong, umbi dan daun pada konsentrasi ekstrak etanol sebagaimana dalam Gambar 1.



Gambar 2. Analisa Total Flavonoid Dalam Ekstrak Etanol. *Leaves* (daun); *Tubers* (umbi); *flower* (bunga); *Capsule* (kapsul binahong).

Sebagaimana dalam Gambar 2. kandungan senyawa flavonoid tertinggi adalah pada bunga yang diikuti oleh kapsul binahong, daun dan umbi. Kandungan flavonoid tinggi menunjukkan adanya kandungan antioksidan sebagai anti penyakit degeneratif.

## Hasil Analisa Aktifitas Antibiotika

Dari hasil uji aktifitas antibiotika ekstrak daun, batang, bunga, umbi tanaman binahong, dan kapsul binahong, menunjukkan bahwa tanaman binahong menunjukkan aktifitas antibiotika sebagaimana golongan penisilina dan tetrasiklina yaitu pada mikroba *Basillus cereus* dan *Basillus subtilis*. Ekstrak daun, batang dan bunga menunjukkan aktifitas sebagaimana golongan tetrasiklina, sedangkan pada umbi terdapat aktifitas antibiotika sebagaimana golongan penisilina dan tetrasiklina. Hasil tersaji dalam Tabel 2.

**Tabel 2. Analisa Ekstrak Binahong Terhadap Aktifitas Golongan Antibiotika**

No	Sampel	*Hasil analisa antibiotika			
		PC	ML	AG	TC
1	Daun	-	-	-	+
2	Batang	-	-	-	+
3	Bunga	-	-	-	+
4	Umbi	+	-	-	+
5	Kapsul .B.1 (Air)	+	-	-	+
6	Kapsul .B.2 (Etanol)	+	-	-	+

\* Positif adanya aktifitas yang berkemampuan menghambat (+), negatif/tidak ada aktifitas antibiotik (-), Golongan Penisilina (PC), Golongan Mikrolida (ML), Golongan Aminoglikosida (AG dan Golongan Tetrasiklina (TC).

Pada sampel kapsul binahong, sebagai kontrol, digunakan dua macam ekstraksi yaitu menggunakan larutan air dan etanol. Pada kedua pelarut itu ditemukan aktifitas antibiotika yang menyerupai jenis penisilina dan tetrasiklina.

## Pembahasan

Fitokimia adalah senyawa aktif kimia pada tanaman atau merupakan unsur pokok dalam tanaman. Fitokimia terdiri dari senyawa metabolit primer dan sekunder. Unsur pokok pada tanaman adalah senyawa alkaloid, tannin, saponin, flavonoid dan fenolik <sup>(5)</sup>. Unsur pokok metabolit primer adalah komponen kimia pada fungsi normal, seperti protein, karbohidrat dan lemak pada tanaman, sedangkan metabolit sekunder adalah turunan dari metabolit primer.

Metabolit sekunder antara lain fenol, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid, tannin, plobatamin, kumarin, alkaloid dan merupakan bioaktif pada tanaman <sup>(9)</sup>.

Pada tanaman binahong kandungan metabolit sekunder yang tinggi adalah total saponin, total fenol, dan total flavonoid. Kandungan senyawa ini mempunyai aktifitas sebagai antioksidan dan antimikroba/antibiotik, sehingga binahong sangat baik dipakai sebagai bahan baku untuk obat tradisional. Steroid dari saponin dapat digunakan sebagai preparat hormon seksual, kortiko steroid, dan derivat dari steroid <sup>(12)</sup>. Menurut Jeong dan Ji Wong (2005), saponin pada akar tanaman dapat digunakan sebagai obat generik yang dapat mengobati penyakit diabetes. Fenol termasuk flavonoid mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang berfungsi sebagai pereduksi radikal bebas, selain itu juga mempunyai peranan penting dalam menghambat mikroba atau sebagai antibiotik <sup>(13,20)</sup>. Secara umum jumlah kandungan fenol (termasuk flavonoid) yang dominan, akan menunjukkan adanya aktifitas dari senyawa fitokimia yang berfungsi menghancurkan mikroba terutama pada kelompok bakteri gram positif <sup>(21)</sup> Menurut Ramos (2007) dengan diet menggunakan senyawa aktif fenol dan flavonoid dapat mengobati kanker. Adapun efek antiproliferatif dari kandungan total fenol dan flavonoid tanaman binahong adalah melindungi tubuh terhadap berbagai penyakit seperti infeksi oleh kuman, kanker, penyakit jantung koroner, diabetes, penyakit infeksi ginjal, dan stroke <sup>(2,13)</sup>.

Kandungan saponin, fenolik dan flavonoid dalam tanaman ini memiliki aktifitas antibiotik sebagaimana golongan tetrasiklin dan penisilin <sup>(7)</sup>. Berdasar hasil penelitian ini tanaman binahong mengandung senyawa fitokimia seperti saponin, fenol dan flavonoid yang mempunyai kemampuan kerja sebagai antibiotik.

### **KESIMPULAN.**

Tanaman binahong memiliki senyawa fitokimia saponin, terpenoid, steroid, fenol, flavonoid dan alkaloid yang mempunyai peran penting sebagai antimikroba/ antibiotika.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Universiti Malaysia Pahang (UMP), khususnya Fakulti Kejuteraan Kimia dan Sumber Asli (FKKSA) yang telah memberi bantuan finansial untuk

penelitian ini dan penelitian dan kepada Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) yang telah memberi kesempatan untuk dapat melanjutkan kuliah ke jenjang master.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. **Association Office Analysis Chemical “AOAC International”**. 1995. Published and Distributed by 481 Nort Frederick Avenue, Suite 500 Gaithersburg MD 20877 USA.
2. **Astuti SM, Mimi SAM, Retno ABM. & Awalludin R.** 2011.a. Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis (Binahong) to potential treatment for several diseases. *Journal of Agricultural Science*, Canadian Center of Science and Education. Vol 3.No 4, December, 2011 pp 224 -232.
3. **Astuti SM, Mimi SAM. & Awalludin R.** 2011.b. Active Substances of *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis in The Phytochemical Constituent. 1<sup>st</sup> International Conference and Exhibition of Women Engineers (ICEWE, 2011), 20-22 November 2011, Bukit Gambang Resort, Kuantan, Pahang, Malaysia.
4. **Chang CC, Yang MH, Wen HM. & Hern JC.** 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10 2002, pp 178-182.
5. **Edeoga HO, Okwu DE. & Mbaebre BO.** 2005. Phytochemical Constituent of Some Nigerian Medicinal Plants. *Afr Journal of Biotechnology* 4: 685-688.
6. **Ernawita.** 2008. Bioassay Guided Fraction and Identification of Antioxidant and Antimicrobial Compound from *Callestemon viminalis* (Gaeten) G.don. Thesis of Master Science. School of Biology Sciences. Universiti Sains Malaysia, pp 10-20.
7. **Figen MT.** 2006. Saponin versus Plant Fungal Pathogens. *Journal of Cell and Molecular Biology* 5: 13-17.
8. **Harborne JB.** 1973. Phytochemical Method, London, Chapman and Hall, Ltd. pp 49-188.
9. **Lenny S.** 2006. Senyawa Terpenoid dan Steroid. Department Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara, Medan. Hal. 10-17.
10. **Lestari P & Janhar M.** 1995. Residu Antibiotika Dalam Air Susu Sapi dan Peternakan di Jakarta. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi Badan Penelitian dan Pengembangan

Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hal. 1-4.

11. **Lester A. Mitscher TL, Lemke. & Elmer JG.** 2008. Antibiotic and Antimicrobial Agents in FOYE'S Principles of Medicinal Chemistry, Sixth Edition. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer Business. Printed in the USA, p. 1028.
12. **Manitto P.** 1992. Biosintesis Produk Alami. Penerjemah Koen Sumardiyah. Semarang IKIP Press. Hal. 70-79.
13. **Manoi F.** 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. Bulletin Warta Volume 15, Number 1, April 2009. Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Indonesia. Hal. 4-5.
14. **Marinova DF, Ribonova. & Allanasova M.** 2005. Total Phenolic and Total Flavonoid in Bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of The University of Chemical Technology and Metallurgy* 40, 3: 255-260.
15. **Meda A, Charles EL, Marco R, Jeanne M. & Odile GN.** 2004. Determination of the Total Phenolic, Flavonoid in Burkina Fasso Honey, As Well As Their Radical Scavenging Activity. Elsevier Ltd All Right reserved, 91: 571 – 577.
16. **Mi-Jeong A. & Jim WK.** 2005. Identification and Qualification of Steroidal Saponins in *Polygonatum* Species by HPLC/ESI/MS. *Arch. Pharm. Res.* Vol 28 No5.592-597.
17. **Mojab F, Kamalinejad M, Naysaneh G. & Hamid RV.** 2003. Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2003, 77-82.
18. **Rangasamy O, Raelison G. Francisco E, Rakoloiriana K, Chenk, Suzane UR, Jullie OL, Ammenah GF. & Anwar HS.** 2007. Screening for Anti Infective Properties of Several Medicinal Plants of The Mauritian Flora. *Journal of Ethnopharmacology* Vol 109 issue 2, pp 331-337.
19. **Ramos S.** 2007. Effects of Dietary Flavonoids on Apoptotic Pathways Related to Cancer Chemoprevention, *J. Nutr. Biochem*, 18, 427–442.
20. **Resi AW. & Surgani A.** 2009. Flavonoida (Quercetin) dalam Makalah Kimia Organik, Program S.2. Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hassanudin Indonesia. Hal. 4-7.
21. **Rios JL. & Rico MC.** 2005. Medicinal Plants and Antimicrobial Activity. Respective paper.

Available online 17 June 2005. pp 80-83.

22. **Santos, Alfredo C, Beatrice QG, Alicia MM. & Estrada CQ.** 1989. Phytochemical, Microbiological and Pharmacological Screening of Medicinal Plants, GHS Publishing Cooperation, Manila. pp. 1517-1525.
23. **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. Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia.
24. **Suwardi U.** 1993. Perkembangan Antibiotik, Pusat Penelitian dan Pengembangan, PT Kalbe Farma, Jakarta Cermin Dunia kedokteran No. 83, 55.
25. **Tshikalange TE, Meyer JJM. & Husein AA.** 2005. Antimicrobial Activity, Toxicity and The Isolation of A Bioactive Compound from Plants Used to Treat Sexually Transmitted Diseases, *Journal of Ethno Pharmacology* 96, pp 515-519.