

**Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Bandotan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio* sp.
Isolat Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)**

***Activity of Ethanol Extract of Bandotan Leaves on The Growth of Vibrio sp. Bacteria Isolated
from Dumbocattfish (Clarias gariepinus)***

Masda Admi¹, Khairani Fitri^{2*}, Hennivanda³, Faisal Jamin¹, Rosmaidar³, Syafruddin⁴, Winaruddin⁵, Azhari⁶

¹Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala,
Banda Aceh, Indonesia

³Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

⁴Laboratorium Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

⁵Indonesiaa Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala,
Banda Aceh, Indonesia

⁶Laboratorium Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

*Corresponding author; Email: admi.masda@usk.ac.id

Naskah diterima: 29 Mei 2024, direvisi: 29 April 2025, disetujui: 15 Juli 2025

Abstract

Bandotan leaves are one of the medicinal plants widely used in treating various diseases because they contain phytochemical compounds that can inhibit bacterial growth, such as alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and steroids. This study research aims to determine the activity of ethanol extract from bandotan leaves on the growth of *Vibrio* sp. isolated from dumbocattfish. The research was conducted using the Kirby Bauer disk diffusion method, which began with isolating bacterial stocks on *Nutrient Broth*, reidentification using *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*, and Gram staining. Furthermore, the inhibitory activity was tested using *Mueller Hinton Agar*. This study consisted of five treatments, namely ethanolic extract of bandotan (*Ageratum conyzoides*) leaves at concentrations of 25% (P1), 50% (P2), and 75% (P3), ciprofloxacin as a positive control, and 1% CMC as a negative control. The results showed that the inhibition zone diameter formed by the positive control (45.13 ± 0.04 mm) was twice as large as that formed by the 25% extract (23.30 ± 0.15 mm), 50% extract (24.29 ± 0.17 mm), and 75% extract (25.29 ± 0.16 mm). The negative control showed no inhibition zone. The conclusion of the study is that the ethanolic extract of bandotan leaves has the potential to inhibit the growth of *Vibrio* sp. bacteria isolated from African catfish (*Clarias gariepinus*).

Keywords: bandotan leaves; ciprofloxacin; *clarias gariepinus*; *Vibrio* sp

Abstrak

Daun bandotan merupakan salah satu tanaman obat yang banyak dimanfaatkan dalam mengobati berbagai jenis penyakit karena mengandung senyawa fitokimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun bandotan terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. isolat ikan lele dumbo. Pelaksanaan penelitian ini menggunakan metode *Kirby Bauer disk diffusion* yang diawali dengan peremajaan stok isolat bakteri pada media *Nutrient Broth*, reidentifikasi dengan media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* dan pewarnaan Gram. Selanjutnya dilakukan uji daya hambat menggunakan media *Mueller Hinton Agar*. Studi ini terdiri dari 5 perlakuan yaitu ekstrak etanol daun bandotan konsentrasi 25% (P1), 50% (P2), dan 75% (P3), siprofloksasin sebagai kontrol positif dan CMC 1% sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan diameter zona

hambat yang terbentuk pada kontrol positif ($45,13 \pm 0,04\text{mm}$) dua kali lebih besar dibandingkan daya hambat yang terbentuk pada ekstrak daun bandotan konsentrasi 25% ($23,30 \pm 0,15\text{mm}$), konsentrasi 50% ($24,29 \pm 0,17\text{mm}$), dan konsentrasi 75% ($25,29 \pm 0,16\text{mm}$), kontrol negatif tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat. Kesimpulan penelitian adalah ekstrak etanol daun bandotan berpotensi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. hasil isolat lele dumbo.

Kata kunci: *clarias gariepinus*; daun bandotan; siprofloksasin; *Vibrio* sp.

Pendahuluan

Vibriosis merupakan penyakit bakterial yang sangat merugikan bagi usaha budidaya ikan, karena dapat menimbulkan tingkat kematian yang tinggi dalam waktu yang sangat singkat. Ikan lele yang terserang vibriosis menunjukkan gejala klinis seperti bercak merah pada tubuh dan insang, koreng, perut kembung yang berisi cairan tubuh berwarna kuning, mata menonjol, kulit mengelupas, sirip punggung dan ekor rontok, dan organ dalam hemoragi (Indrarini *et al.*, 2014).

Penanggulangan infeksi *Vibrio* sp. pada ikan biasanya menggunakan antibiotik seperti kloramfenikol, teramisin, dan oksitetrasiklin yang dicampurkan ke dalam pakan (Fatimah dan Sari, 2015). Penanganan vibriosis umumnya digunakan antibiotik seperti amoksisilin, ampisilin, kloramfenikol, kotrimoksazol, siprofloksasin, doksisiklin, eritromisin, gentamisin, asam nalidiksilat, neomisin, polimiksin B, streptomisin, kotrimoksazol, tetrasiklin, dan vankomisin yang umumnya merupakan antibiotik pilihan (Osunla dan Okoh, 2017). Akan tetapi, pemberian antibiotik yang berlebihan dan tidak terkontrol dapat mengganggu pertumbuhan ikan serta dapat memicu resistensi bakteri terhadap antibiotik, sehingga berdampak terhadap kegagalan pengobatan pada ikan yang terinfeksi (Damayanti *et al.*, 2019). Beberapa laporan telah melaporkan terjadinya resistensi terhadap antibiotik ampisilin, sefalekssin, kotrimoksazol, dan asam nalidiksilat serta antibiotik golongan beta-laktam terhadap *Vibrio* sp. (Pandey *et al.*, 2023; Putri *et al.*, 2023 dan Kusmarwati *et al.*, 2017), sehingga perlu dikembangkan pengobatan alternatif anti *Vibrio* sp. yang berasal dari tanaman obat.

Salah satu tanaman obat yang dapat dijadikan sebagai alternatif dalam mengatasi resistensi bakteri adalah tanaman bandotan.

Secara empiris, tanaman ini dilaporkan berkhasiat dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti radang telinga, meringankan rasa sakit, diare, penyembuhan luka, dan juga dapat berfungsi sebagai antimikroba atau antibakteri (Admi *et al.*, 2022). Keberadaan tanaman bandotan sangat mudah ditemukan dan dianggap sebagai gulma pertanian di masyarakat (Harefa *et al.*, 2022), dan hidup di negara tropis dan subtropis. Tanaman bandotan memiliki morfologi daun berwarna putih, halus, berbulu, dan bunga berwarna putih, biru atau ungu (Kotta *et al.*, 2020 dan Pay *et al.*, 2022).

Tanaman bandotan secara ilmiah telah dilaporkan memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yang dipengaruhi oleh senyawa fitokimia yang terkandung didalamnya, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan minyak atsiri (Barelrina *et al.*, 2021). Menurut Liu *et al.* (2015) kandungan fitokimia yang terdapat dalam tanaman obat dipengaruhi oleh letak geografis dari tempat tumbuh tanaman. Menurut Rewo (2017) senyawa yang paling banyak terdapat dalam daun bandotan adalah flavonoid dan alkaloid.

Hasil laporan penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa daun bandotan dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas Aeruginosa* (Admi *et al.*, 2022). Abdullah *et al.* (2021), melaporkan bahwa hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan dengan konsentrasi 30% memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. ekstrak etanol daun bandotan juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan kadar hambat minimum 25 mg/mL (Astuti, 2015). Selain itu, ekstrak methanol, aseton, dan heksana daun bandotan juga dilaporkan memiliki daya hambat terhadap *Salmonella typhi* (Ajayi *et al.*, 2016).

Berdasarkan beberapa laporan tentang kemampuan ekstrak etanol daun bandotan dalam menghambat pertumbuhan bakteri,

maka penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun bandotan dengan konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. yang diisolasi dari ikan lele dumbo.

Materi dan Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. Pada bulan Desember 2023 - Januari 2024.

Penelitian ini menggunakan metode *Kirby Bauer disk diffusion* sebagai uji sensitifitas antibakteri dan tanaman bandotan yang diekstraksi di Laboratorium Farmasi FKH USK.

Persiapan Isolat Bakteri Sampel

Stok bakteri dari NA disegarkan kembali kedalam NB dan setelah 24 jam dipindahkan ke media TCBS dengan metode gores (*streak plate*). Ose digores pada permukaan agar secara *quadrant streak* guna, kemudian disimpan dalam *incubator* dengan suhu 37°C selama 24 jam (Hasanah *et al.*, 2022). Koloni terpisah pada media TCBS ditetaskan pada *object glass* yang sudah ditetaskan NaCl fisiologis 0,9% lalu difiksasi di atas bunsen, kemudian ditetesi dengan *crystal violet* dan didiamkan selama 2 menit. Sisa zat warna dibuang, kemudian dibilas dengan air mengalir. Preparat ditetesi dengan larutan lugol dan dibiarkan selama 1 menit dan dilunturkan dengan alkohol 95% selama 10 detik untuk melunturkan warna. Kemudian dicuci dengan air mengalir dan ditetesi zat warna safranin, dibiarkan selama 1-2 menit lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan di udara dan ditetaskan minyak emersi, kemudian diamati morfologi dan warna sel bakteri menggunakan mikroskop.

Persiapan Ekstrak etanol daun bandotan sebagai perlakuan

Pembuatan ekstrak etanol daun bandotan menggunakan 2,5 kg daun bandotan segar yang diambil dari desa Baru km 76, kecamatan Timang Gajah, kabupaten Bener Meriah, provinsi Aceh dengan kriteria daun yang masih muda. Daun bandotan kemudian dibersihkan dan dikering anginkan selama 3 hari pada suhu kamar.

Selanjutnya, daun yang telah kering dihaluskan menggunakan blender untuk memperoleh simplisia. Sebanyak 200 gr simplisia dilarutkan dengan 2 liter etanol 96% (perbandingan 1:10) dan direndam selama 3x24 jam. Selanjutnya, rendaman disaring untuk memperoleh filtrat dari ekstrak dan diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk memisahkan etanol dengan ekstrak, sehingga diperoleh sebanyak 50 gram ekstrak kental yang siap digunakan sebagai perlakuan. Dalam penelitian ini tidak dilakukan pengujian terhadap kadar pelarut etanol, hal ini diyakini bahwa penguapan dengan *vacum rotary evaporator* dapat menarik semua kandungan pelarut terutama etanol yang terkandung dalam ekstrak tanpa merusak senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak (Azwanida, 2015). Ekstrak kental yang diperoleh disusun konsentrasi perlakuan 25%, 50% dan 75%, menggunakan larutan pengencer CMC 1 %,

Uji daya hambat antibakteri

Suspensi bakteri *Vibrio* sp. yang tumbuh pada media NB dan disesuaikan dengan standar *McFarland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml), kemudian diswab pada permukaan media MHA secara merata. Sediaan didiamkan selama 15 menit, selanjutnya pada permukaan media MHA ditempelkan disk cakram yang telah direndam pada semua perlakuan yaitu ekstrak etanol daun bandotan konsentrasi 25% (P1), 50% (P2), dan 75% (P3), selama 15 menit. Sebagai kontrol negatif diberikan larutan CMC 1%, kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali untuk meningkatkan keakuratan hasil uji. Diamati zona hambat yang terbentuk dengan mengukur luasan diameter zona hambat yang terlihat disekitar disk menggunakan jangka sorong dalam satuan milli meter (mm) (Admi *et al.*, 2022)

Hasil dan Pembahasan

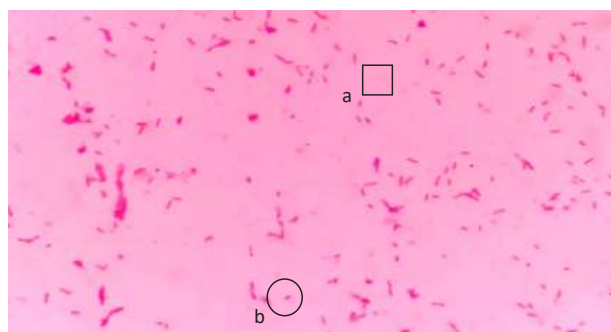
Hasil pembiakan bakteri dalam media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* Aga (TCBS) menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Vibrio* yang seragam dengan morfologi koloni berbentuk bulat dan berwarna hijau kebiruan. Hasil pengamatan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. pada media TCBS

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan pertumbuhan bakteri pada media TCBS dengan warna hijau kebiruan sebagai indikator dari morfologi bakteri *Vibrio* (Mewengkang, 2010). Warna kehijauan pada media TCBS dikarenakan bakteri tidak mampu memfermentasi sukrosa seperti bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio vulnificus*. Morfologi koloni yang tumbuh menunjukkan bentuk bulat, permukaan cembung, tepi rata, berwarna hijau, dan tekstur halus yang berukuran sedang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sanatang *et al.* (2017) bahwa ciri-ciri bakteri *Vibrio* sp. menunjukkan koloni bulat berwarna hijau, berukuran sedang, halus elevasi cembung.

Koloni bakteri terpisah pada media TBSC berdasarkan hasil pengamatan secara pewarnaan Gram menunjukkan isolat bakteri Gram negatif dan berbentuk batang pendek lurus dan melengkung (koma). Sesuai dengan pendapat Green dan Goldman (2021) bahwa *Vibrio* sp. memiliki sel melengkung atau lurus, dengan sel tunggal atau bersatu membentuk spiral (S). Spesies *Vibrio* dapat berupa batang pendek lurus dengan ukuran $1,5-3,0 \mu\text{m} \times 0,5 \mu\text{m}$. Tujuan dari pewarnaan Gram adalah untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan karakteristik dinding selnya. Menurut Rini dan Rohmah (2020) bakteri Gram negatif mengandung peptidoglikan yang jumlahnya lebih sedikit dibandingkan bakteri Gram positif, tetapi diluar peptidoglikan terdapat membrane luar yang tersusun atas lipoprotein dan fosfolipid serta mengandung lipopolisakarida. Hasil pewarnaan Gram disajikan pada Gambar 2.

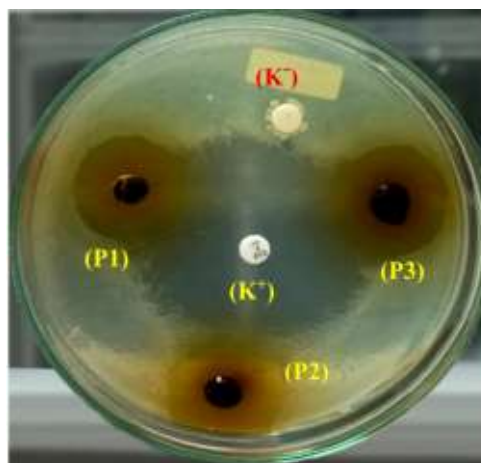


Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram bakteri *Vibrio* sp. Perbesaran 1000X

Pemeriksaan secara pewarnaan Gram dilakukan sebagai langkah dalam memastikan keseragaman bakteri sampel yang digunakan. Hasil pewarnaan menunjukkan bakteri *Vibrio* sp yang digunakan terlihat murni dan tidak ada kontaminasi dengan bakteri lain. Kemurnian dari bakteri ini akan memberikan gambaran aktivitas ekstrak etanol daun bandotan terhadap bakteri *Vibrio* sp.

Hasil uji aktivitas daya hambat ekstrak etanol daun bandotan dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% terhadap bakteri *Vibrio* menunjukkan adanya perbedaan luasan zona hambat yang terlihat berupa warna kuning gelap terbentuk sekitar disk perlakuan dan kontrol yang digunakan terlihat berwarna bening. Hasil penelitian disajikan pada Gambar 3 dan Tabel 1.

Berdasarkan Gambar 3 dan Tabel 1. dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun bandotan memiliki aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. dengan perlakuan P1, P2, P3. Setiap perlakuan menunjukkan



Gambar 3. Diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi 25% (P1); konsentrasi 50% (P2); konsentrasi 75% (P3); Kontrol positif (K+) siprofloksasin 5µg; kontrol negatif (K-) CMC 1%.

Tabel 1. Hasil pengamatan zona hambat ekstrak etanol daun bandotan terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) ± Standar Deviasi	Aktivitas Zona Hambat			Keterangan
		Refrensi Zona Hambat (CLSI, 2015)			
		Kuat ≥21 mm	Sedang 16-20 mm	Lemah ≤15 mm	
P1	23,30 ± 0,15	γ	—	—	Kuat
P2	24,29 ± 0,17	γ	—	—	Kuat
P3	25,29 ± 0,16	γ	—	—	Kuat
K+	45,13 ± 0,04	γ	—	—	Kuat
K-	0 ± 0	—	—	γ	Lemah

Keterangan: P1 (25%); konsentrasi P2 (50%); konsentrasi P3 (75%); Kontrol positif (K+) siprofloksasin 5μg; kontrol negatif (K-) CMC 1%.

adanya perbedaan zona hambat yang terbentuk di sekitar disk. Hal ini diduga karena adanya pengaruh kandungan fitokimia ekstrak daun bandotan yang terdapat di dalam *disc* sehingga pada perlakuan P1 dan P2 terlihat zona hambat lebih kecil dari P3. Penentuan daya hambat ekstrak tanaman obat selama mengacu pada penelitian Wayne (2020) bahwa kriteria zona hambat dibagi beberapa kriteria yaitu ≤12 mm aktivitas daya hambat lemah, 13-17 mm sedang dan ≥18mm kuat. Berdasarkan dari keritia tersebut, maka hasil penelitian ini memberikan gambaran bahwa ekstrak etanol tanaman obat dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75 % memiliki aktivitas kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

Hasil pengukuran diameter zona hambat di sekitar disk perlakuan P1, P2, dan P3, terlihat adanya perbedaan ukuran diameter zona hambat yang terbentuk. Perbedaan diameter zona hambat tersebut diduga berkaitan dengan tingkat konsentrasi yang digunakan pada masing-masing perlakuan. Semakin tinggi konsentrasi, semakin besar kandungan fitokimia yang terkandung dalam ekstrak dan memungkinkan banyaknya penyerapan zat fitokimia kedalam *blank disc*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahman *et al.* (2022) bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan semakin tinggi aktivitas antibakteri atau semakin luas zona hambat yang terbentuk di sekitar disk.

Adanya aktivitas zona hambat dari ekstrak etanol daun bandotan diketahui berdasarkan perbandingan dengan kontrol negatif yang menggunakan CMC 1% tidak menunjukkan aktivitas zona hambat. Penggunaan CMC 1%

sebagai kontrol negatif yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pelarut etanol yang digunakan pada saat ekstraksi serta melihat pengaruh pengencer CMC 1% yang digunakan sebagai pengenceran ekstrak kental pada saat penyusunan konsentrasi perlakuan. Hasil penelitian ini sedsuai dengan pendapat Daud *et al.* (2023) bahwa penggunaan kontrol negatif CMC sebagai pengemulsi tidak mempengaruhi aktivitas daya hambat dari ekstrak yang akan diuji. Penggunaan kontrol positif digunakan antibiotik siprofloksasin memiliki daya hambat luas karena masih memiliki kemampuan dalam menghambat replikasi DNA. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sumampouw (2018) siprofloksasin efektif untuk bakteri *Vibrio* yang bersifat bakteriosidal dan menghambat replikasi DNA disebabkan karena enzim yang disebut DNA gyrase yang diikat oleh antibiotik ini untuk memisahkan DNA yang direplikasikan.

Zona hambat yang terbentuk pada setiap perlakuan P1, P2, dan P3 diyakini disebabkan oleh adanya aktivitas senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bandotan. Purwanti (2022) menjelaskan bahwa hasil ekstraksi daun bandotan dengan pelarut etanol 96% positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Munira *et al.* (2020) melaporkan bahwa komponen flavonoid terdiri dari auron, kalkon, flavon, flavonol, dan leukoantosianin yang berperan dalam aktivitas antibakteri terdeteksi dalam daun bandotan.

Beberapa kandungan yang terdapat dalam daun bandotan bekerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Frethernety *et al.* (2023) Alkaloid bekerja dengan cara mengganggu

komponen pembentuk peptidoglikan bakteri, menghambat pembentukan lapisan dinding sel, yang mengakibatkan kematian sel. Sementara itu, flavonoid menghambat bakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat, mengakibatkan gangguan pembentukan DNA dan RNA bakteri, sehingga menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri. Herdiana *et al.* (2024) juga menjelaskan bahwa mekanisme kerja senyawa tanin dengan cara pengendapan protein dan menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel dalam bakteri tidak dapat terbentuk. Rahmawati *et al.* (2020) mengatakan saponin membentuk ikatan polimer yang merusak porin sehingga mengurangi permeabilitas membran sel bakteri. Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom.

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis kerja senyawa sekunder yang tumbuh dalam daun bandotan, maka bakteri *Vibrio* sp. hasil isolat dari ikan lele dumbo mampu dihambat dengan sangat baik oleh ekstrak etanol daun bandotan dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka semakin banyak kandungan senyawa sekunder yang terdapat di dalam perlakuan, hal ini menunjukkan daya hambat pada konsentrasi tinggi (75%) terlihat daya hambat lebih baik dari konsentrasi 25% dan 50%.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% memiliki aktivitas daya hambat dengan kategori kuat secara *in vitro*. Semakin besar konsentrasi menunjukkan semakin besar daya hambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. hasil isolat dari ikan lele dumbo.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kami ucapkan kepada seluruh teknisi di laboratorium mikrobiologi dan laboratorium farmakologi di Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala yang telah membantu dan menyediakan fasilitas dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Abdullah, S. S., Djide, N., & Natsir, S. (2021). KLT bioautografi hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap *Shigella dysenteriae*. <https://doi.org/10.35799/cp.14.1.2021.34076>.
- Admi, M., Sari, Y., Isa, M., Rasmaidar, Amiruddin., Helmi, T. Z., dan Akmal, Y. (2022). Sensitivity test of bandotan leaf extract (*Ageratum conyzoides*) against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. *Int. J. Trop. Vet. Biomed. Res*, 7(1): 29-35.
- Ajayi, G. N., Awala, S. I., Okogbue, F. N., Ogunleye, A. G., & Olaleye, B. F. (2016). Antibacterial efficacy of *Ageratum conyzoides* on *Salmonella* species isolated from suspected typhoid fever patients in Akure Metropolis, Nigeria. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 2-9. DOI: 10.9734/JAMPS/2016/23307
- Astuti, H. (2015). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air daun bandotan (*Ageratum conyzoides*, L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Majalah Farmaseutik*, 11(1), 290-293. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v11i1.24118>.
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med aromat plants*, 4(196), 2167-0412. <http://dx.doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>.
- Barelrina, N. P., Lukmayani, Y., & Kodir, R. A. (2021). Potensi aktivitas antibakteri daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Prosiding Farmasi* [http://dx. doi.org, 10\(v7i1\), 26004](http://dx.doi.org/10(v7i1), 26004).
- Damayanti, S., Kusdarwati, R., & Suprpto, H. (2019). Bacterial resistance of *Escherichia coli* against antibiotics in *Clarias batrachus* digestion. *AACL Bioflux*, 12(6), 2195-2201.

- Daud, N. S., Arni, D. P., Idris, S. A., & Saehu, M. S. (2023). Uji aktivitas antibakteri ekstrak batang *Meistera chinensis* terhadap *Escherichia coli* atcc 35218. *Warta Farmasi*, 12(1), 8-18. <https://doi.org/10.46356/wfarmasi.v12i1.236>
- Fatimah, E. N., & Sari, M. (2015). *Kiat sukses budidaya ikan lele*. Bibit Publisher..
- Frethernety, A., Jelita, H., & Nugrahini, S. (2023). *Potensi Bahan Alam di Kalimantan Tengah sebagai Antikariogenik-Jejak Pustaka*. Jejak Pustaka.
- Green, E. G. L. Practical Handbook of Microbiology. (2009). *Taylor and Frances Group, LLC. CRC Press. Newyork.*
- Harefa, S. K., Zega, U., & Bago, A. S. (2022). Pemanfaatan Daun Bandotan (*Ageratum Conyzoides* L.) Sebagai Obat Tradisional di Desa Bawoza'ua Kecamatan Telukdalam Kabupaten Nias Selatan. *Tunas: Jurnal Pendidikan Biologi*, 3(1), 14-24. <https://doi.org/10.57094/tunas.v3i1.477>.
- Hasanah, N., Sudaryatma, P. E., Razaq, I., Eriawati, N. N., Nugraha, W. A., Kumalasari, H., ... & Dewi, I. A. M. M. (2022). Deteksi Dini Kontaminasi *Vibrio parahaemolyticus* dan *Escherichia coli* pada Produk Perikanan Dengan Multiplex Polymerase Chain Reaction Early Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Escherichia coli* Contamination in Fisheries Product Using Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 171-182. DOI : 10.22146/jsv.73314.
- Herdiana, N., Sugiharto, R., & Winanti, D. D. T. (2024). *Rempah dan Minyak Atsiri Daun*. CV. Gita Lentera.
- Indrarini, D., & Prayitno, S. B. (2014). Agensi penyebab vibriosis ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) pada kolam bekas tambak udang. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(4), 299-307.
- Kotta, J. C., Lestari, A. B., Candrasari, D. S., & Hariono, M. (2020). Medicinal effect, in silico bioactivity prediction, and pharmaceutical formulation of *Ageratum conyzoides* L.: A review. *Scientifica*, 2020(1), 6420909. <https://doi.org/10.1155/2020/6420909>
- Kusmarwati, A., Yenni, Y., & Indriati, N. (2017). Resistensi antibiotik pada *Vibrio parahaemolyticus* dari udang vaname asal pantai utara Jawa untuk pasar ekspor. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 12(2), 91-106. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v12i2.352>
- Liu, W., Liu, J., Yin, D., & Zhao, X. (2015). Influence of ecological factors on the production of active substances in the anti-cancer plant *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) TS Ying. *PLoS one*, 10(4), e0122981. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122981>
- Mewengkang, H. W. (2010). Identifikasi *Vibrio* sp pada Gonad Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis* L). *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*, 6(1), 18-21. <https://doi.org/10.35800/jpkt.6.1.2010.109>.
- Munira, M., Rodisa, F., & Nasir, M. (2020). Uji antibakteri kombinasi ekstrak daun Biduri (*Calotropis gigantea* L.) dan daun Bandotan (*ageratum conyzoides* L.). *Jurnal SAGO Gizi dan Kesehatan*, 1(2), 165-171. <http://dx.doi.org/10.30867/gikes.v1i2.410>
- Osunla, C. A., & Okoh, A. I. (2017). *Vibrio* pathogens: A public health concern in rural water resources in sub-Saharan Africa. *International journal of environmental research and public health*, 14(10), 1188. <https://www.mdpi.com/1660-4601/14/10/1188>.
- Pandey, R., Sharma, S., & Sinha, K. K. (2023). Evidence of antibiotic resistance and virulence factors in environmental isolates of *Vibrio* species. *Antibiotics*, 12(6), 1062. <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/6/1062>.
- Pay, C., Watuguly, T. W., & Wael, S. (2022). Potensi Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Sebagai Obat Diabetes Melitus. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan*, 9(1), 89-99. <https://doi.org/10.30598/biopendixvol9issue1page89-99>

- Purwanti, A. (2022). Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L). *Pharmacon*, 11(4), 1694-9. <https://doi.org/10.35799/pha.11.2022.41108>.
- Putri, C. I., Wardhana, M. F., Andrifanie, F., & Iqbal, M. (2023). Literature Review: Kejadian Resistensi Pada Penggunaan Antibiotik. *Medical Profession Journal of Lampung*, 13(3), 219-225. <https://doi.org/10.53089/medula.v13i3.629>
- Rahman, I. W., Fadlilah, R. N., Kristiana, H. N., & Dirga, A. (2022). Potensi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) dalam menghambat pertumbuhan *Serratia marcescens*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 13(1). <https://doi.org/10.20956/jal.v13i1.20452>
- Rahmawatiani, A., Mayasari, D., & Narsa, A. C. (2020, December). Kajian literatur: aktivitas antibakteri ekstrak herba suruhan (*Peperomia pellucida* L.). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 12, pp. 117-124). <https://doi.org/10.30872/mpc.v12i.128>
- Rewo, C. A. (2017). *Standardisasi Ekstrak Etanol 70% Daun Bandotan (Ageratum Conyzoides L.)* (Doctoral dissertation, Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang).
- Rini, C. S., & Jamilatur, R. (2020). Buku Ajar Mata Kuliah Bakteriologi Dasar.
- Sanatang., Surianto, T. dan Mulyani, U. S. (2023). Identifikasi bakteri *Vibrio* sp pada korean food yang belum diolah menggunakan metode kultur dan PCR (polymerase chain reaction). *Jurnal MediLab Mandala Waluya*, 7(1): 22-33
- Sumampouw, O. J. (2018). Uji sensitivitas antibiotik terhadap bakteri *escherichia coli* penyebab diare balita di kota manado. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 104-110.
- Wayne, P. (2020). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. *Clsi M100 Ed302020*.