

**PENGGUNAAN EKSTRAK KASAR DAUN KAPUK RANDU
(*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) UNTUK MENGHAMBAT BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO**

**USE OF KAPOK RANDU LEAVES CRUDE EXTRACT
(*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) TO INHIBIT *Pseudomonas fluorescens* BACTERIA IN
VITRO**

Karmelita Ardyn, Sri Andayani, Heny Suprastyani*

Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran Malang 65145,
Indonesia

*Koresponden penulis : henysuprastyani@ub.ac.id

Abstrak

Bakteri *Pseudomonas fluorescens* adalah agen penyakit yang sering dikaitkan dengan penyakit kulit dan sirip. Pengobatan yang biasa dilakukan yaitu dengan pemberian antibiotik, namun penggunaan yang tidak rasional akan menimbulkan terjadinya kekebalan mikroorganisme terhadap antibiotik. Solusi pengobatan yang dapat diberikan yaitu dengan penggunaan bahan alami daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) yang mengandung bahan aktif sebagai antibakteri. Tujuan dilakukan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan, 3 ulangan dan 2 kontrol dengan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan uji cakram. Dosis perlakuan ekstrak kasar daun kapuk randu yaitu 62,5 ppm, 87,5 ppm, 112,5 ppm, 137,5 ppm dan 162,5 ppm. Hubungan yang terbentuk pada setiap perlakuan menunjukkan pola regresi linier dengan persamaan $y = 5,0868 + 0,0351x$ dan koefisien $R^2 = 0,89$. Kesimpulan yang didapatkan pada penelitian yaitu penggunaan ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*, sejalan dengan penambahan dosis zona hambat yang terbentuk semakin tinggi.

Kata kunci: Daun kapuk randu, *Pseudomonas fluorescens*, Uji cakram, Uji MIC

Abstract

Pseudomonas fluorescens is a disease agent often associated with skin and fin diseases. The usual treatment is by giving antibiotics, but irrational use will lead to the occurrence of microorganism immunity to antibiotics. The treatment solution that can be given is using natural ingredients from kapok leaves (*C. pentandra* (L.) Gaertn) which contain active ingredients as antibacterial. This study aimed to determine the effect of the crude extract of kapok leaf (*C. pentandra* (L.) Gaertn) on *P. fluorescens* bacteria. The method used in this study is the experimental method with a completely randomized design (CRD) with 5 treatments, 3 replications, and 2 controls with the MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) test and disc test. The treatment doses of kapok leaf crude extract were 62.5 ppm, 87.5 ppm, 112.5 ppm, 137.5 ppm, and 162.5 ppm. The relationship formed in each treatment shows a linear regression pattern with the equation $y = 5.0868 + 0.0351x$ and the coefficient $R^2 = 0.89$. The conclusion obtained in the study was that the use of the crude extract of kapok leaf (*C. pentandra* (L.) Gaertn) affected inhibiting the growth of *P. fluorescens* bacteria, in line with the increase in the dose of inhibition zone formed which was higher.

Key words: Disc test, Kapok randu leaves, MIC test, *Pseudomonas fluorescens*

PENDAHULUAN

Pengembangan kegiatan budidaya perikanan di Indonesia memiliki potensi yang besar, namun pada penerapan kegiatan budidaya seringkali dihadapkan dengan permasalahan yang dapat menyebabkan kerugian bahkan mengalami kegagalan produksi yaitu serangan penyakit. Penyakit yang biasanya menyerang pada organisme yaitu akibat serangan patogen baik virus, jamur, parasit dan bakteri. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah penyakit yang paling banyak menyebabkan kegagalan dalam usaha budidaya ikan [1]. Penyakit akibat infeksi bakteri masih sering terjadi dengan intensitas yang variatif. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri (*bacterial diseases*) umumnya merupakan infeksi internal.

Salah satu bakteri yang kerap menyerang pada organisme air tawar yaitu *Pseudomonas fluorescens*. Infeksi bakteri ini bersamaan dengan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*, dengan prevalensi bakteri *Pseudomonas* sp. (67%) lebih tinggi dibandingkan dengan *A. hydrophila* (33%) [7]. Tanda-tanda luar pada ikan yang terserang bakteri *P. fluorescens* yaitu nampak luka pada kulit dengan batas-batas yang jelas. Kehilangan pigmen, pendarahan dan pembengkakan terbatas pada daerah yang terluka [9].

Kegiatan pengobatan yang biasa dilakukan yaitu dengan pemberian antibiotik secara terkontrol. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional akan menimbulkan dampak negatif, seperti terjadinya kekebalan mikroorganisme terhadap beberapa antibiotik [11]. Langkah alternatif yang dapat dilakukan untuk pengobatan penyakit oleh bakteri yaitu dengan menggunakan bahan alami.

Pemanfaatan bahan alami sebagai pengobatan sangat dianjurkan karena memiliki efek samping lebih kecil dan harga yang ekonomis. Pada penelitian terdahulu [2], penggunaan bahan alami berupa ekstrak kasar belimbing wuluh terbukti efektif dalam menghambat bakteri *P. fluorescens* yang dengan uji cakram yang dimana menghasilkan zona daya hambat. Bahan alami lain yang

dapat dimanfaatkan yaitu daun kapuk randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn).

Daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) merupakan bahan alami yang kaya akan bahan aktif. Daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) mengandung bahan aktif berupa fenol, alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Salah satu bahan aktif yang berperan dalam menghambat bakteri yaitu flavonoid [10]. Hal ini diperkuat oleh pernyataan [8] menyatakan bahwa peran senyawa golongan flavonoid dalam menghambat bakteri adalah menonaktifkan enzim kemudian mengikat adhesin, yang kemudian merusak membran sel.

Tujuan dilakukan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens*. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pelaku usaha budidaya dan masyarakat luas dalam pengobatan penyakit oleh bakteri *P. fluorescens*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada Bulan Maret - April 2022.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian menggunakan 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol. Perlakuan yang digunakan adalah penggunaan dosis ekstrak daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Perlakuan A (62,5 ppm), B (87,5 ppm), C (112,5 ppm), D (137,5 ppm) dan E (162,5 ppm). Kontrol positif berupa antibiotik *tetracycline* 30 ppm dan kontrol negatif tanpa perlakuan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *autoclave*, baskom, *beaker glass*, blender, *blue tip*, botol film, Bunsen, cawan petri, corong, Erlenmeyer, gelas ukur, *hot plate*, inkubator, jangka sorong, *Laminary Air Flow* (LAF), jarum ose, lemari pendingin,

mikropipet 100-1000 μ L pinset, rak tabung reaksi, *rotary vacuum evaporator*, spatula, *sprayer*, tabung reaksi, timbangan digital, *vortex mixer*, *triangle*, pipet volume.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu akuades, alkohol 70%, *aluminium foil*, bakteri *P. fluorescens*, daun kapuk randu, DMSO 10%, ethanol 70%, kapas, kertas cakram, kertas saring, media MHA, media PSA, media TSB, plastik *wrap*, spirtus, *tetracycline*, NaCl teknis.

Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Kapuk Randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn)

Metode maserasi diterapkan dalam proses ekstraksi pada penelitian ini. Maserasi melibatkan perendaman bahan tanaman (kasar atau bubuk) dalam wadah tertutup dengan pelarut untuk melunakkan dan menghancurkan dinding sel tanaman untuk melepaskan fitokimia yang larut [4]. Serbuk daun kapuk randu sebanyak 100 g dilakukan maserasi dengan ethanol 70% pada perbandingan 1 : 7,5 (b/v) selama 3 kali 24 jam. Hasil larutan disaring dan dievaporasi pada suhu 70 $^{\circ}$ C sampai menghasilkan ekstrak berupa pasta. Hasil rendemen yang didapatkan yaitu 14,06%.

Pembuatan Media Agar Miring

Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) ditimbang 0,48 g. Media kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 10 mL pada Erlenmeyer dan dihomogenkan dengan *hot plate*. Tabung reaksi kemudian ditutup dengan kapas dan *aluminium foil*, selanjutnya di sterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121 $^{\circ}$ C selama 15 menit. Media steril kemudian diletakkan dengan kemiringan 45 $^{\circ}$ dan dibiarkan hingga memadat. Media agar miring kemudian dilakukan *strike* dengan isolat bakteri.

Kultur Bakteri

Media TSB (*Trypton Soya Broth*) ditimbang 0,3 gram dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 10 mL yang kemudian dihomogenkan dengan *hot plate*. Media kemudian di sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 $^{\circ}$ C selama 15 menit. Bakteri hasil peremajaan kemudian dilakukan kultur pada media TSB steril.

Pembuatan Media Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Media TSB ditimbang 1,5 gram kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 49,5 mL, dan dihomogenkan dengan *hot plate*. Media yang homogen kemudian dipindahkan pada 11 tabung reaksi masing – masing 4,5 mL. Dosis yang digunakan dalam uji MIC yaitu 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,3 ppm, 15,6 ppm, 7,8 ppm, 3,9 ppm, 1,9 ppm. Kemudian tabung reaksi berisi media dilakukan sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 $^{\circ}$ C selama 15 menit.

Pembuatan Uji Cakram

Media MHA ditimbang 3,8 gram kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 mL, dan dihomogenkan dengan *hot plate*. Media dilakukan sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 $^{\circ}$ C selama 15 menit. Dosis perlakuan ekstrak kasar daun kapuk yang digunakan yaitu A (62,5 ppm), B (87,5 ppm), C (112,5 ppm), D (137,5 ppm) dan E (162,5 ppm). Media steril dituang pada cawan petri steril masing – masing \pm 25 mL. Perlakuan dilakukan pada LAF (*Laminary Air Flow*) agar tetap dalam kondisi steril.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilakukan dengan penggunaan ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) menggunakan pelarut DMSO pada dosis yang berbeda agar mengetahui dosis terkecil yang dapat menghambat bakteri *P. fluorescens*.

Hasil pengamatan uji MIC berdasarkan tingkat absorbansi pada panjang gelombang 600 nm disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Uji MIC

No	Dosis (ppm)	Absorbansi	Warna
1	500	0,158	Bening
2	250	0,248	Bening
3	125	0,251	Bening

4	62,5	0,214	Bening
5	31,3	0,294	Keruh
6	15,6	0,328	Keruh
7	7,8	0,333	Keruh
8	3,9	0,376	Keruh
9	1,9	0,479	Keruh
10	K(-)	0,517	Keruh
11	K(+)	0,207	Bening

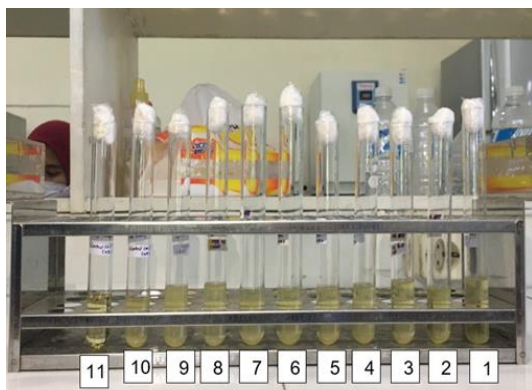
Keterangan :

K (+) : antibiotik *tetracycline* 30 ppm.

K (-) : tanpa pemberian ekstrak.

Berdasarkan hasil pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer, dosis MIC yang didapatkan yaitu pada dosis 62,5 ppm karena mampu menghasilkan nilai absorbansi yang mendekati kontrol positif dan menghasilkan tingkat kekeruhan warna bening pertama kali.

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dilakukan dengan mengamati turbiditas pada media TSB [3]. Dosis MIC yang digunakan yaitu dosis dengan nilai absorbansi yang mendekati dengan kontrol positif dan menunjukkan perubahan warna yang bening pertama kali. *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) merupakan konsentrasi minimal yang bisa digunakan antimikroba untuk menghambat mikroorganisme setelah 18 – 24 jam inkubasi [13]. Hasil dosis pada uji MIC yaitu 62,5 ppm kemudian akan digunakan pada dosis untuk uji cakram. Hasil uji MIC berdasarkan tingkat kekeruhan disajikan pada Gambar 1.



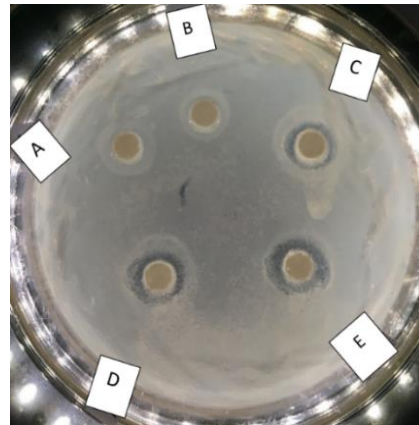
Gambar 1. Hasil Uji MIC

Pemberian ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dikarenakan ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) mengandung senyawa – senyawa

antibakteri. Hal ini sejalan dengan pendapat [6], bahwa daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) mengandung saponin, tannin, fenol, alkaloid, flavonoid, saponin, dan senyawa aktif lainnya.

Uji Cakram

Pada penelitian ini dosis yang digunakan dalam uji cakram yaitu dosis 62,5 ppm, 87,5 ppm, 112,5 ppm, 137,5 ppm dan 162,5 ppm dengan 2 kontrol yaitu kontrol positif menggunakan antibiotik *tetracycline* 30 ppm dan kontrol negatif tanpa pemberian ekstrak. Hasil diameter zona hambat yang terbentuk tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Uji Cakram

Keterangan:

A (62,5 ppm), B (87,5 ppm), C (112,5 ppm), D (137,5 ppm)

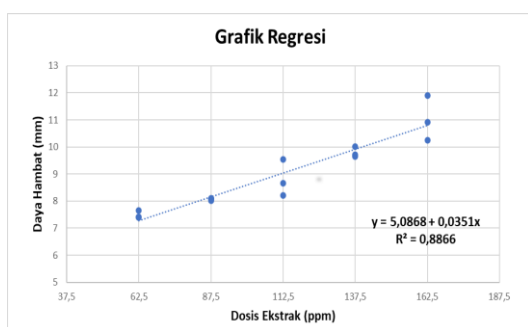
Hasil data zona bening dari ekstrak daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) yang terbentuk pada pengamatan 24 jam pada disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rata – Rata Zona Hambat Bakteri

Perlakuan	Rerata Diameter Zona Hambat (mm)
A (62,5 ppm)	7,49 ^a
B (87,5 ppm)	8,07 ^{ab}
C (112,5 ppm)	8,80 ^b
D (137,5 ppm)	9,79 ^c
E (162,5 ppm)	11,02 ^d

Berdasarkan hasil data yang diperoleh menunjukkan bahwa dosis yang memberikan zona hambat tertinggi yaitu pada dosis 162,5 ppm sebesar 11,02 mm, sedangkan zona hambat terendah pada dosis 62,5 ppm sebesar 7,49 mm.

Hubungan antara penggunaan ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) terhadap zona hambat bakteri *P. fluorescens* didapatkan dari hasil uji polinomial orthogonal, grafik disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Grafik Hubungan Daya Hambat

Berdasarkan grafik regresi yang disajikan pada gambar diatas, hubungan antara setiap dosis ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) yang ditambahkan terhadap diameter zona hambat menunjukkan pola regresi linier dengan persamaan $y = 5,0868 + 0,0351x$ dengan koefisien $R^2 = 0,89$. Hubungan antara perlakuan terhadap zona hambat bakteri *P. fluorescens* meningkat seiring dengan penambahan dosis ekstrak kasar daun kapuk randu. Hal ini sesuai dengan pernyataan [14] yang menyatakan bahwa semakin tingginya dosis ekstrak yang digunakan dapat meningkatkan diameter daya hambat yang terbentuk, hal ini dikarenakan kandungan komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak juga semakin tinggi sebagai agen antibakteri.

Penggunaan ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) dapat dikatakan efektif dalam menghambat tumbuhnya bakteri *P. fluorescens* karena menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk pada sekitar kertas cakram yang telah mengandung ekstrak. Adanya kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tannin atau fenol dan alkaloid dalam ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaert yang memampukan dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*.

Mekanisme senyawa saponin dalam menghambat bakteri yaitu dengan interaksi antar membran sterol diikuti dengan kenaikan permeabilitas sel, yang mengakibatkan protein dan enzim dalam sel – sel bakteri terjadi pelepasan [5]. Sedangkan mekanisme kerja senyawa flavonoid yaitu dengan pembentukan senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut yang mengakibatkan terganggunya pembentukan dinding sel sehingga sel mengalami lisis.

Senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan membran sel, menonaktifkan enzim dan terjadinya denaturasi protein dan kemudian akan menyebabkan kerusakan sel karena turunnya permeabilitas [12]. Pada konsentrasi yang tinggi senyawa fenol mampu menembus dinding sel dan pada konsentrasi yang lebih rendah kandungan fenol sudah mampu menonaktifkan sistem yang penting pada enzim sel bakteri.

Mekanisme senyawa alkaloid dalam menghambat bakteri yaitu dengan mengganggu proses pembentukan komponen penyusun peptidoglikan yang terdapat pada sel bakteri, yang menyebabkan dinding sel yang tidak terbentuk sepenuhnya dan akan mengakibatkan bakteri tersebut mati [15].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan dapat diambil kesimpulan yaitu penggunaan ekstrak kasar daun kapuk randu (*C. pentandra* (L.) Gaertn) berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Zona daya hambat yang terbentuk meningkat seiring dengan peningkatan dosis ekstrak yang digunakan. Zona hambat tertinggi yang terbentuk pada penelitian ini yaitu pada penggunaan dosis 162,5 ppm sebesar 11,02 mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, M.S. dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, M.S. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan masukkan kepada penulis,

serta semua pihak yang turut membantu memberi dukungan dan doa sehingga penyusunan artikel ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Afrianto, E., Liviawaty, E., Jamaris, Z., & Hendi. (2015). Penyakit Ikan. Jakarta.
- [2] Andayani, S., Suprastyani, H., & Rahmawati, E. D. (2019). Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilmbi* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*. 3(3), 301-307. <https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2019.003.03.3>
- [3] Azaldin, M., Syawal, H., & Lukistyowati, I. (2020). Sensitivity of pineapple peel (*Ananas comosus*) extract against *Edwardsiella tarda* bacteria. *Jurnal Ruaya*, 8(1), 53-59. <http://dx.doi.org/10.29406/jr.v8i1.1847>
- [4] 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. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- [5] Berlian, Z., & Fatiqin, A., & Agustina, E. (2016). Penggunaan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* pada bahan pangan. *Bioilmi: Jurnal Pendidikan*. 2(1), 51-58. <https://doi.org/10.19109/bioilmi.v2i1.1139>
- [6] Fauziah, S. (2020). Uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 70% daun kapuk randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) dengan metode DPPH. *ISTA Online Teknologi Journal*, 1(1), 10-16.
- [7] Hardi, E. H. (2018). Bakteri Patogen pada Ikan Air Tawar *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens*. Samarinda.
- [8] Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2017). Isolasi, identifikasi, uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6(2), 91-96. <https://doi.org/10.15294/ijcs.v2i1.1218>
- [9] Nur, I. (2019). Penyakit Ikan. Yogyakarta.
- [10] Pratiwi, R. H. (2014). Potensi kapuk randu (*Ceiba pentandra* Gaertn.) dalam penyediaan obat herbal. *E-Journal Widya Kesehatan dan Lingkungan*. 1(1), 53-60. <https://www.neliti.com/publications/36809/potensi-kapuk-randu-ceiba-pentandra-gaertn-dalam-penyediaan-obat-herbal>
- [11] Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal Pro-Life: Jurnal Pendidikan Biologi, Biologi, dan Ilmu Serumpun*. 4(3), 418-429. <https://doi.org/10.33541/jpvol6Iss2pp102>
- [12] Purwantiningsih, T. I., & Suranindyah, Y. Y., & Widodo. (2014). Aktivitas senyawa fenol dalam buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai antibakteri alami untuk penghambatan bakteri penyebab mastitis. *Buletin Peternakan*. 38(1), 59-64. <https://doi.org/10.21059/buletinpeterna.k.v38i1.4617>
- [13] Soelama, H. J., Kepel, B. J., & Siagian, K. V. (2015). Uji minimum inhibitory concentration (MIC) ekstrak rumput laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. *e-GiGi*, 3(2). <https://doi.org/10.35790/eg.3.2.2015.9630>
- [14] Surjowardojo, P., Susilorini, T. E., & Sirait, G. R. B. (2015). Daya hambat dekok kulit apel manalagi (*Malus*

sylvestris Mill.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. penyebab mastitis pada sapi perah. Journal of Tropical Animal Production. 16(2), 40-48. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2015.016.02.6>

[15] Tuntun, M. (2016). Uji efektivitas ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Kesehatan, 7(3), 497-502. <http://dx.doi.org/10.26630/jk.v7i3.235>