

Anti-Bacterial Effectiveness Test of Tamarind Leaf Extract (*Tamarindus indica*) and Turmeric Extract (*Curcuma longa*) against Klebsiella Pneumonia Bacteria: Uji Efektivitas Anti Bakteri dari Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dan Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) terhadap Bakteri Klebsiella Pneumonia

*Tiara Juliana
Chylen Setiyo Rini*

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo
Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

Tamarind and turmeric are used by the community to treat respiratory diseases and fever obtained at the Pandaan market. This study aims to determine the effectiveness of tamarind leaves and turmeric by maceration in inhibiting *Klebsiella pneumoniae* bacteria at various concentrations. Antibacterial activity test using Kirby-Bauer disc diffusion method with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. Tamarind and turmeric leaves used maceration extraction method by immersion using 96% ethanol as solvent. The positive control used was Penicillin while the negative control used was DMSO 10%. The concentrations of the samples used were: tamarind leaf extract with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%; turmeric extract concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%; a combination of 25% tamarind leaf extract and 75% turmeric extract; a combination of 50% tamarind leaf extract and 50% turmeric extract; combination of 75% tamarind leaf extract and 25% turmeric extract. The total number of samples is 33 samples. The best inhibition was obtained from the results of the inhibition zone > 20 mm. Turmeric extract had the best antibacterial activity against the growth of *Klebsiella pneumoniae* bacteria at concentrations of 50%, 75%, and 100%. With each inhibition zone diameter of 21.5 mm; 29.83 mm ; and 33.16 mm. Based on the results of the Two Way ANOVA test with a 95% confidence level ($p > 0.05$), it was found that there was no significant effect between samples of tamarind leaf extract and turmeric extract on the growth of *Klebsiella pneumoniae* bacteria.

A nti-Bacterial Effectiveness Test of Tamarind Leaf Extract (*Tamarindus indica*) and Turmeric Extract (*Curcuma longa*) against Klebsiella pneumoniae bacteria

Uji Efektivitas Anti Bakteri dari Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dan Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia*

Tiara Juliana¹⁾, Chylen Setiyo Rini^{*2)}

^{1,2)} Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia. *Email penulis korespondensi: chylensetiyorini@umsida.ac.id

Abstract. Tamarind and turmeric plants are often found throughout the archipelago, very easy to grow so they are easy to breed. Tamarind and turmeric are used by the community to treat respiratory diseases and fever obtained at the Pandaan market. This study aims to determine the effectiveness of tamarind leaves and turmeric by maceration in inhibiting *Klebsiella pneumoniae* bacteria at various concentrations. Antibacterial activity test using Kirby-Bauer disc diffusion method with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. Tamarind and turmeric leaves used maceration extraction method by immersion using 96% ethanol as solvent. The positive control used was Penicillin while the negative control used was DMSO 10%. The concentrations of the samples used were: tamarind leaf extract with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%; turmeric extract concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%; a combination of 25% tamarind leaf extract and 75% turmeric extract; a combination of 50% tamarind leaf extract and 50% turmeric extract; a combination of 75% tamarind leaf extract and 25% turmeric extract. The total number of samples was 33 samples. The best inhibition was obtained from the results of the inhibition zone > 20 mm. Turmeric extract had the best antibacterial activity against the growth of *Klebsiella pneumoniae* bacteria at concentrations of 50%, 75%, and 100%. With each inhibition zone diameter of 21.5 mm; 29.83 mm ; and 33.16 mm. Based on the results of the Two Way ANOVA test with a 95% confidence level ($p > 0.05$), it was found that there was no significant effect between samples of tamarind leaf extract and turmeric extract on the growth of *Klebsiella pneumoniae* bacteria.

Keywords: antibacterial; *Klebsiella pneumonia*; tamarind (*Tamarindus indica*.); turmeric (*Curcuma longa*).

Abstrak. Tanaman asam jawa dan kunyit sering ditemukan diseluruh nusantara, sangat mudah tumbuh sehingga mudah dikembangbiakkan. Asam jawa dan kunyit digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit saluran nafas dan demam yang diperoleh di pasar Pandaan. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas daun asam jawa dan kunyit secara maserasi dalam menghambat bakteri *Klebsiella pneumonia* pada berbagai konsentrasi. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Daun asam jawa dan kunyit menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan perendaman menggunakan pelarut etanol 96%. Kontrol positif yang digunakan adalah Penisilin sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%. Konsentrasi sampel yang digunakan yaitu: ekstrak daun asam jawa konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% ; ekstrak kunyit konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% ; kombinasi ekstrak daun asam jawa 25% dan ekstrak kunyit 75% ; kombinasi ekstrak daun asam jawa 50% dan ekstrak kunyit 50% ; kombinasi ekstrak daun asam jawa 75% dan ekstrak kunyit 25%. Jumlah keseluruhan sampel sebanyak 33 sampel. Daya hambat terbaik didapatkan dari hasil zona hambat >20 mm. Ekstrak kunyit memiliki aktivitas antibakteri terbaik terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia* pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100%. Dengan masing-masing diameter zona hambat 21,5 mm ; 29,83 mm ; dan 33,16 mm. Berdasarkan hasil uji Two Way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% ($p > 0,05$) diperoleh hasil tidak ada pengaruh yang signifikan antara sampel ekstrak daun asam jawa dan ekstrak kunyit terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia*.

Kata Kunci. Antibakteri; *Klebsiella pneumonia*; asam jawa (*Tamarindus indica*); kunyit (*Curcuma longa*).

Pendahuluan

Masyarakat Indonesia mayoritas mengetahui tanaman yang berkhasiat obat untuk menjadi salah satu upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapi [1]. Di zaman sekarang ini, kemajuan teknologi yang semakin canggih, namun tanaman yang berkhasiat obat ini tidak dapat tergantikan [2]. Hal ini terbukti dari banyaknya konsumen yang mengonsumsi obat tradisional [3]. Tanaman asam jawa dan kunyit sering ditemukan diseluruh nusantara, sangat mudah tumbuh sehingga mudah dikembangbiakkan [4]. Asam jawa dan kunyit digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit saluran nafas dan demam [5]. Infeksi saluran pernapasan akut (ISPA) merupakan penyakit infeksi akut yang menyerang salah satu bagian saluran napas seperti sinus, rongga telinga tengah sampai dengan pleura.

Insidens ISPA di negara berkembang pada Balita diprediksi 0,29 kali per anak per tahun sedangkan di negara maju 0,05 kali per anak setiap tahun. Hal ini terjadi 156 juta kasus baru per tahun di dunia dan data menghasilkan 151 juta kejadian (96,7%) terjadi di beberapa negara berkembang. Kasus tertinggi terjadi di Pakistan (10 juta), India (43 juta) dan China (21 juta). Selanjutnya kejadian di Nigeria, Bangladesh, Indonesia terdapat 6 juta kasus. Menurut data WHO, di Indonesia terjadi 2-3 kali per tahun kejadian batuk-pilek yang menyerang Balita yang digunakan sebagai manifestasi awal ISPA. Gejala umum ISPA adalah batuk yang sering disertai lendir. Sebagaimana penyakit infeksi lainnya ISPA juga disebabkan oleh berbagai mikroorganisme terutama bakteri. Aktivitas antibakteri daun pare telah banyak dilakukan terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Shigella dysenteriae*. Namun pembuktian ilmiah terhadap bakteri penyebab ISPA belum terpublikasi dalam beberapa tahun terakhir.

Ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica*) yang diketahui mengandung senyawa kimia seperti tanin, saponin, dan flavonoid yang membuat daun asam jawa dapat berkhasiat sebagai obat. Sedangkan, ekstrak kunyit (*Cucurma longa*) diketahui memiliki antiinflamasi, antioksidan, antikarsinogenik, antikoagulan, antibakteri, antidiabetik, antifertilitas, antifungal, antiprotozoa, antifibrotik, antivenom, hipotensif, dan hipokolestolemik.

Hasil dari penelitian sebelumnya, mengidentifikasi bakteri dari sputum penderita ISPA non tuberkulosis. Hasil kultur ditemukan 5 jenis bakteri yaitu ; *Streptococcus pneumonia*; *Klebsiella pneumonia*; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis*; *Enterobacter agglomerans* dan 1 jenis jamur yaitu *Candida albicans*. Sedangkan dari hasil penelitian sebelumnya yang kedua, ekstrak daun asam jawa mempunyai efektifitas anti mikroba pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan berbagai konsentrasi. Menggunakan dua macam kelompok control yaitu kontrol positif (*amoxicillin*), kontrol negatif (DMSO 10%), terdapat 4 konsentrasi ekstrak daun asam jawa 25%, 50%, 75%, dan 100%. Pada konsentrasi 25% terdapat efektivitas antimikroba yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata jumlah koloni bakteri yang tumbuh sejumlah 256 koloni dan nilai $p < 0,05$ (0,000). Pada konsentrasi 50% terdapat koloni bakteri yang tumbuh sejumlah 153 koloni dan nilai $p < 0,05$ (0,000). Pada konsentrasi 75% terdapat koloni bakteri yang tumbuh sejumlah 91 koloni dan nilai $p < 0,05$ (0,000). Dan pada konsentrasi 100% terdapat koloni yang terbentuk sebanyak 40 koloni dan nilai $p < 0,05$ (0,000).

Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini penulis tertarik untuk menggabungkan antara kedua bahan alami untuk menguji efektivitas anti bakteri dari ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica*) dan ekstrak kunyit (*Cucurma longa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia* yang juga belum pernah dilakukan oleh penelitian sebelumnya.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dilaboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2021. Alat yang digunakan yaitu autoklaf, ose, aluminium foil, bunsen, pipet tetes, beaker gelas, neraca analitik, blender, pipet maat, batang pengaduk, petridish, corong, rak tabung, erlenmeyer, spatula, inkubator, spidol permanen, kaki tiga dan kasa, kertas saring, tissue, kertas pH, tabung reaksi, kertas saring. Bahan yang digunakan yaitu kunyit dan daun asam jawa yang berasal dari pasar Pandaan, Pasuruan, aquades steril, alkohol 70%, kapas lemak, spirtus, media *Mac.Conkey*, media *Mueller-Hinton*, standart *mc. Farland*, biakan murni *Klebsiella pneumonia*, Antibiotik Penisilin.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan konsentrasi yang digunakan adalah 25%, 50%, 75%, 100% dan jumlah pengulangan 3 kali. Dilakukan pembuatan ekstrak kunyit dan ekstrak daun asam jawa menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan sampel serbuk kunyit dan daun asam jawa masing-masing sebanyak 300gr. Dilakukan perendaman masing-masing serbuk dengan menggunakan etanol 96% selama 3x24 jam. Setelah itu disaring menggunakan corong dan saringan/kain kasa. Maserat dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C sehingga terbentuk ekstrak kasar. Setelah itu ekstrak kasar diletakkan diatas *water bath* untuk

menghasilkan ekstrak kental. Dilakukan pengenceran masing-masing konsentrasi ekstrak kunyit dan ekstrak daun asam jawa menggunakan DMSO 10%. Biakan murni *Klebsiella pneumonia* di inokulasi pada media *MacConkey* selama 24 jam pada suhu 37°C.

Setelah itu bakteri di inokulasi menggunakan ose ke dalam PZ steril sampai didapatkan kekeruhan setara dengan standart Mc farland 0,5, kemudian swab steril yang berisi bakteri diinokulasikan dan diratakan pada media MHA (*Muller Hinton Agar*), kertas cakram yang sudah direndam ekstrak kunyit dan ekstrak daun asam jawa juga kombinasi keduanya diletakkan diatas media MHA lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dan pengukuran berdasarkan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong, luas diameter diukur dengan rumus:

$$(Dv - Dc) + (Dh - Dc)$$

2

Keterangan:

Dv : diameter vertikal

Dh : diameter horizontal

Dc : diameter cakram

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa sampel ekstrak daun asam jawa dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% berbeda dengan sampel sampel ekstrak kunyit dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Pada konsentrasi kunyit dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% berbeda dengan sampel air kelapa muda dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Pada konsentrasi 25% sampel ekstrak daun asam jawa memiliki rata-rata 8,16 mm, sedangkan sampel ekstrak kunyit memiliki rata-rata 13,16 mm. Pada konsentrasi 50% sampel ekstrak daun asam jawa sebesar 13,16 mm sedangkan sampel ekstrak kunyit sebesar 21,5 mm. Pada konsentrasi 75% sampel ekstrak daun asam jawa sebesar 21,5 mm sedangkan sampel ekstrak kunyit sebesar 29,83 mm. Pada konsentrasi 100% sampel ekstrak daun asam jawa sebesar 27,33 mm sedangkan sampel ekstrak kunyit sebesar 33,16 mm. Daya hambat ekstrak kunyit lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun asam jawa. Hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kunyit lebih banyak yakni mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik dan tanin. Dibandingkan ekstrak daun asam jawa yang tidak mengandung senyawa flavonoid hanya mengandung alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik dan tanin. Menurut Agustina beberapa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin dan tanin mempunyai aktivitas antibakteri. Masing-masing senyawa menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara kerja yang berbeda. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh metabolit sekunder secara umum melalui penghambatan pembentukan senyawa penyusun dinding bakteri yang akan merusak permeabilitas membran sel bakteri [6].

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan akan menyebabkan kematian pada sel bakteri tersebut [7]. Saponin yang terkandung dalam kunyit dapat digunakan sebagai antibakteri, interaksi saponin dengan dinding sel akan menyebabkan rusaknya dinding dan membran sel sehingga akhirnya bakteri lisis hal ini dikarenakan zat aktif permukaan saponin mirip dengan deterjen dimana tegangan permukaan dinding sel pada bakteri diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak. Kelangsungan hidup bakteri akan terganggu akibat rusaknya membran sel [8]. Senyawa tanin berfungsi sebagai pertahanan diri dari serangan bakteri, virus dan fungi. Tanin juga memiliki peran penting dalam dunia kesehatan yaitu sebagai antibiotik.

Prinsip kerja tanin sebagai antibiotik adalah dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh patogen atau dengan mengganggu proses metabolisme patogen tersebut [9]. Flavonoid yang terkandung dalam kunyit dapat mengganggu integritas membran sel bakteri yang disebabkan oleh kemampuan flavonoid dalam membentuk senyawa kompleks terhadap protein selular [10].

Sampel	Konsentrasi	P1 (mm)		P2 (mm)	P3 (mm)	Rata-Rata
Ekstrak Kunyit	25% 50%	6,5	14	14 16,5	19 34	13,16 21,5
75%	24	29		36,5	29,83	
100%	26,5	31,5		41,5	33,16	
Ekstrak Daun Asam Jawa	25% 50% 75%	4	6,5 16,5	14 16,5 19	6,5 16,5 29	
100%	24	26,5		31,5	27,33	
Kontrol +	39					
Kontrol -	0					

Table 1. Diameter Daerah Hambat Ekstrak Kunyit Dan Ekstrak Daun Asam Jawa Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia*

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa konsentrasi kombinasi Dapat dilihat dari hasil data Tabel 4.8 bahwa kombinasi sampel ekstrak kunyit konsentrasi 25% dengan sampel daun asam jawa konsentrasi 75% memiliki rata-rata 14,83 mm. Pada kombinasi sampel ekstrak kunyit konsentrasi 50% dengan sampel ekstrak daun asam jawa konsentrasi 50% rata-rata sebesar 19mm. Sedangkan pada kombinasi sampel ekstrak kunyit konsentrasi 75% dengan sampel ekstrak daun asam jawa konsentrasi 25% mendapatkan rata-rata sebesar 19mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kunyit dan ekstrak daun asam jawa mengandung zat antibakteri berupa senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri walaupun daya hambat nya lemah, sedang hingga kuat.

Klebsiella pneumonia

Sampel	Konsentrasi	P1 (mm)	P2 (mm)	P3 (mm)	Ratarata
Ekstrak Kunyit : Ekstrak Daun Asam Jawa	25% : 75% 50% : 50%	6,5 14	14 16,5	24 26,5	14,83 19
75% : 25%	11,5	19	26,5	19	

Table 2. Diameter Daerah Hambat Kombinasi Ekstrak Kunyit Dan Ekstrak Daun Asam Jawa Terhadap Bakteri

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji analisis data. Data pengukuran diameter zona hambat kemudian diuji secara statistic menggunakan uji Two Way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) pada Lampiran 4. Berdasarkan hasil uji normalitas diperoleh nilai normal. Data tersebut dikatakan terdistribusi normal, karena nilai signifikan $> 0,05$. Setelah dilakukan uji normalitas kemudian melakukan uji perbandingan menggunakan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan yang nyata di setiap konsentrasi. Pada uji Tukey didapatkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan antara sampel ekstrak daun asam jawa dan ekstrak kunyit terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia*

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah Daya hambat yang paling berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia* yaitu pada ekstrak kunyit pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dengan hasil 13,16 mm, 21,52 mm, 29,83 mm, 33,16 mm. Didapatkan hasil analisis data statistik tidak ada perbedaan yang signifikan antara sampel ekstrak daun asam jawa dan ekstrak kunyit terhadap

pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia*. Hal ini disebabkan karena kedua tanaman tersebut memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik dan tanin yang merupakan senyawa antibakteri.

References

1. [1] Abebe, E., Gugsa, G., & Ahmed, M. (2020). Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. *Journal of Tropical Medicine*, 2020. DOI: 10.1155/2020/4674235
2. [2] Adila, R., & Agustien, A. (2013). Uji antimikroba curcuma spp. terhadap pertumbuhan candida albicans, staphylococcus aureus dan escherichia coli. *Jurnal Biologi UNAND*, 2(1). DOI: 10.25077/jbioua.2.1.%25p.2013
3. [3] Agustina, S., Ruslan, R., & Wiraningtyas, A. (2016). Skrining fitokimia tanaman obat di kabupaten Bima. *CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 4(1), 71-76. Retrieved from: <https://ocs.unud.ac.id/index.php/cakra/article/view/21426>
4. [4] Amalia, A., Sari, I., & Nursanty, R. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *Prosiding Biotik*, 4(1). Retrieved from: <http://103.107.187.25/index.php/PBiotik/article/view/2160>
5. [5] Kusbiantoro, D. (2018). Pemanfaatan kandungan metabolit sekunder pada tanaman kunyit dalam mendukung peningkatan pendapatan masyarakat. *Kultivasi*, 17(1), 544-549. DOI 10.24198/kultivasi.v17i1.15669
6. [6] Mardiana, A. D. (2015). Potensi Filtrat Daun Sansevieria trifasciata terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 4(1). Retrieved from: <https://jurnalmahasiswa.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/10882>
7. [7] Mulyanto, A., Mujahid, I., & Khasanah, T. U. (2018). Kemampuan Air Kelapa Muda Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri Escherichia coli Penyebab Diare. *BIO-SITE Biologi dan Sains Terapan*, 4(1), 18-24. Retrieved from <https://online-jurnal.unja.ac.id/BST/article/view/4963/8849>
8. [8] Nobiola, R. K., Triwahyuni, T., Triswanti, N., & Warganegara, E. (2020). Uji Sensitivitas Kunyit Kuning dan Kunyit Putih Terhadap Bakteri Pencemar Susu. *ARTERI: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 1(4), 263-269. DOI: 10.37148/arteri.v1i4.73
9. [9] Nurmawati, S., Prodjoswoyo, S., Chairunnisa, N. H., Djauhari, H., & Alisjahbana, B. (2019). Faktor Risiko Penyebab Foodborne Disease pada Siswa SD. *Jurnal Sistem Kesehatan*, 4(4). Retrieved from http://jurnal.unpad.ac.id/jsk_ikm/article/view/22990/11156
10. [10] Sari, K. (2015). Kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah alpukat (*Persea americana*). *P. Mill) terhadap bakteri Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(2), 203-211. DOI: 10.35508/jkv.v3i2.1043
11. [11] Timur, D.J (2018) Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur Tahun 2017
12. [12] Utami, E. R. (2011). Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Sainstis*. DOI: 10.18860/sains.v0i0.1861