

Standarisasi Cemaran Mikrob Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan Baku Sediaan Obat Tradisional

(MICROBIAL CONTAMINATION STANDARDIZATION OF SOURSOP LEAVES (*Annona muricata* L.) AS A TRADITIONAL MEDICINAL PREPARATIONS)

Adelia Putri¹,
Luh Made Sudimartini², Anak Agung Gde Oka Dharmayudha³

¹Mahasiswa Tingkat Sarjana Kedokteran Hewan,

²Laboratorium Fisiologi, Farmakologi dan Farmasi Veteriner,

³Laboratorium Diagnosa Klinik, Patologi Klinik dan Ragiologi Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

e-mail: adelliaputry@yahoo.com

ABSTRAK

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman bahan obat tradisional yang berkhasiat dan memiliki komponen aktif sebagai antibakteri, antivirus, antijamur, antiparasit dan antiinflamasi. Ekstrak daun sirsak terbukti efektif sebagai bahan obat tradisional yang dikemas dalam bentuk sediaan salep/krim untuk penyakit dermatitis pada anjing. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui jumlah cemaran mikrob daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang dibuat menjadi sediaan obat telah memenuhi standar cemaran mikrob yang diperbolehkan berdasarkan parameter dari Farmakope Herbal Indonesia (FHI) sesuai dengan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional dan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Departemen Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2000. Pemeriksaan cemaran mikrob pada daun sirsak dilakukan dengan Uji Angka Lempeng Total (ALT) dan Uji Angka Kapang/Khamir (AKK). Hasil uji Angka Lempeng Total (ALT) dari sampel daun sirsak menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA) yang diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 24 jam menunjukkan angka 3850 cfu/mL atau $3,85 \times 10^3$ cfu/mL. Sampel daun sirsak layak dan memenuhi standar yang ditentukan bentuk sediaan semi padat untuk angka lempeng total yaitu maksimal $\leq 10^7$ koloni / g. Hasil uji Angka Kapang/Khamir (AKK) dari sampel daun sirsak menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 3-5 hari menunjukkan angka 3200 cfu/mL atau $3,2 \times 10^3$ cfu/mL. Sampel daun sirsak layak dan memenuhi standar yang ditentukan bentuk sediaan semi padat untuk angka lempeng total yaitu maksimal $\leq 10^4$ koloni / g.

Kata-kata kunci: angka kapang/khamir; angka lempeng total; cemaran mikrob; daun sirsak; standarisasi

ABSTRACT

Soursop leaf (*Annona muricata* L.) is an efficacious traditional medicinal plant which has active components such as antibacterial, antivirus, antifungal, antiparasitic and anti inflammation. Soursop leaf extract has proven to be effective as a traditional medicinal ingredient in the form of ointments/creams for complex dermatitis in dogs. The purpose of this research is to determine quantity of contaminated microbial of soursop leaf that can be used for medication which is meeting the standard requirement of Farmakope Herbal Indonesia (FHI) according the regulation from BPOM RI No. 32 of 2019 about Traditional Medication Quality Requirement and Standard Parameter of Herbal Medication Plants Extract by Health Department of Republic Indonesia in 2000. Examination

of microbial contamination on soursop leaf was done by the Analysis Total Plate Number Test (ALT) and the Mold / Yeast Fungus Test (AKK). The sample had been incubated in temperature of 35-37 °C for 24 hours made results of 3850 cfu/mL or $3,85 \times 10^3$ cfu/mL. The samples of the soursop leaf that had been tested were meeting the standard requirement of semi-solid for ALT test in maximum $\leq 10^7$ colony/grams. And the results of AKK test from the sample with Potato Dextrose Agar (PDA) as method and incubated in temperature of 20-25°C for 3-5 days resulting of 3200 cfu/mL atau $3,2 \times 10^3$ cfu/mL. The sample of soursop leaf from this test is fulfilling the standard requirement provided for semi-solid amount for ALT which is $\leq 10^4$ colony/grams.

Keywords: khamir test, total plate number test, microbial contamination, sour leaf, standardization

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang kaya akan berbagai macam jenis tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Perkembangan pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional dengan penggunaan yang lebih baik sekarang lebih diminati, hal ini disebabkan karena obat tradisional relatif mudah didapat. Bahan obat dari alam yang tumbuh melimpah di Indonesia dapat menundukung usaha pengobatan dengan menggunakan obat tradisional menjadi semakin meningkat dan berkembang luas di masyarakat.

Obat tradisional ini umumnya berasal dari tumbuhan asli Indonesia dan banyak terdapat di sekitar rumah atau lingkungan pedesaan. Tanaman obat yang banyak terdapat di sekitar kita salah satunya adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) (Fahrimal *et al.*, 2010). Daun sirsak memiliki multikhasiat dan banyak digunakan sebagai obat dalam penyembuhan maupun pencegahan penyakit (SNI, 2018). Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak daun sirsak memiliki kandungan *acetogenins*, flavonoid, terpenoid, alkaloid, polifenol, saponin dan tanin yang berperan sebagai antitumor, antimikrob, antiparasit dan antivirus.

Penggunaan daun sirsak sebagai bahan obat herbal yang dikemas dalam bentuk krim pernah diteliti oleh Widyanti (2018), yang dalam penelitiannya krim herbal yang dipergunakan merupakan kombinasi dari daun pegagan, daun sirsak dan daun mimba. Krim herbal ini terbukti efektif dalam mempercepat kesembuhan lesi anjing penderita dermatitis kompleks. Penelitian yang dilakukan oleh Wiryana *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa penyakit dermatitis pada anjing jalanan di Bali masih sangat tinggi (Widyanti *et al.*, 2018). Obat kimia seperti penicillin, tetrasiklin, doxysiklin, minosiklin, ampisilin, amoxicillin, dan obat anti parasit seperti ivermectin sering digunakan sebagai pengobatan untuk penyakit dermatitis pada anjing (Walaa *et al.*, 2018). Obat-obatan tersebut memiliki efek samping yang tinggi dan mahal harganya, sehingga obat tradisional untuk hewan sering digunakan oleh peternak karena harganya yang murah dan mudah didapat dan ketersediaannya bisa tak

terbatas sehingga pemakaian obat tradisional ini cenderung meningkat dari tahun ke tahun (Tagboto dan Townson, 2011).

Peningkatan penggunaan obat tradisional perlu disikapi secara bijak karena masih adanya pandangan yang keliru bahwa obat tradisional selalu aman, tidak ada risiko bahaya bagi kesehatan konsumen. *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa terjadi efek yang tidak diinginkan dari obat tradisional akibat kesalahan mengambil jenis tumbuhan obat yang digunakan, ketidaktepatan dosis, dan kesalahan dalam penggunaan oleh konsumen. Standarisasi keseragaman mutu produk sangat perlu dilakukan untuk menjamin keseragaman mutu dari bahan alam yang akan diformulasikan dalam suatu sediaan farmasi (Depkes RI, 2000).

Salah satu tahapan standarisasi yang penting dalam pengolahan menjadi sediaan obat tradisional adalah uji cemaran mikrob yang menjadi persyaratan dari Farmakope Herbal Indonesia (FHI) dengan memiliki jumlah cemaran yang layak sesuai dengan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional dan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Departemen Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2000.

Penelitian ini akan digunakan sampel daun sirsak yang berasal dari Desa Peliatan, Kecamatan Ubud, Kabupaten Gianyar. Letak geografis dari Kecamatan Ubud adalah $8^{\circ} 27' 17''$ - $8^{\circ} 34' 43''$ lintang selatan dan $115^{\circ} 13' 45,7''$ - $115^{\circ} 16' 51,7''$ bujur timur. Kecamatan Ubud memiliki hawa yang sejuk bahkan cenderung dingin dan dikenal sebagai daerah yang subur dan cocok untuk lahan pertanian (Lindari *et al.*, 2018). Tanpa perawatan yang sulit, tanaman ini dapat tumbuh di pekarangan rumah. Uji cemaran mikrob pada daun sirsak dapat dilakukan dengan uji Angka Lempeng Total (ALT) dan uji Angka Kapang/*Khamir* (AKK) yang bertujuan untuk memeriksa sampel daun sirsak yang akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat memiliki tingkat standar cemaran yang diperbolehkan berdasarkan parameter yang ada. Penelitian ini juga merupakan sebagai langkah awal pembuatan obat tradisional untuk memberikan jaminan mutu kefarmasian yang dapat dilanjutkan untuk dibuat sediaan obat tradisional semi padat. Standarisasi cemaran mikrob yang nantinya telah diketahui diharapkan meningkatkan produk sediaan yang berasal dari tanaman herbal dapat diproduksi dan memiliki standarisasi.

MATERI DAN METODE

Penelitian yang digunakan adalah sampel daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang dibudidayakan di sekitar rumah di Desa Peliatan, Kecamatan Ubud, Kabupaten Gianyar. Jumlah sampel daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebanyak 100 gram. Prosedur penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pengenceran Sampel

Menyiapkan gelas ukur berisi 45 ml NaCl 0,9% dan tabung reaksi sebanyak 4 buah yang diisi dengan 9 mL NaCl 0,9%. Serbuk daun sirsak ditimbang sebanyak 5 gram lalu dimasukkan kedalam gelas ukur berisi 45 mL NaCl 0,9% lalu dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Sebanyak 1 mL pengenceran 10^{-1} dipipet ke dalam tabung reaksi kedua lalu dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} . Proses pengenceran dilakukan sampai tabung terakhir pada pengenceran 10^{-4} .

Pembuatan Media *Plate Count Agar* (PCA) dan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Menyiapkan 1,75 gram media PCA yang dilarutkan dalam 100 mL aquades dan 3,9 gram media PDA yang dilarutkan dalam 100 mL aquades. Kemudian dipanaskan dengan kompor listrik sambil diaduk perlahan menggunakan batang pengaduk sampai jernih dan tidak ada endapan. Tabung erlenmeyer diangkat dan didiamkan sampai tidak terlalu panas, lalu mulut botol ditutup dengan kapas dan dilapisi *aluminium foil*. Larutan media PCA dan PDA disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi selesai dilanjutkan dengan membagi larutan media PCA ke dalam 9 cawan petri masing-masing ± 12 mL. Proses dilakukan di dalam laminar air flow agar tidak terjadi kontaminasi, setelah itu media PCA yang sudah dingin dan memadat dapat disimpan di dalam lemari es dalam posisi terbalik sebelum digunakan.

Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Larutan dimasukan 0,1 mL menggunakan pipet ke masing-masing media PCA dan dibuat duplo. Cawan petri disebar menggunakan batang bengkok hingga suspensi tersebar merata. Uji kontrol (blanko) dibuat untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer. Proses dilakukan sampai cawan petri ke-4 atau pada pengenceran hingga 10^{-4} . Media memadat, cawan petri diinkubasi pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam dengan posisi terbalik. Amati dan hitung jumlah koloni yang tumbuh.

Uji Angka Kapang/*Khamir* (AKK)

Larutan dimasukan 0,1 mL menggunakan pipet ke masing-masing media PDA dan dibuat duplo. Segera cawan petri disebar menggunakan batang bengkok hingga suspensi tersebar merata. Uji kontrol (blanko) dibuat untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer. Proses dilakukan sampai cawan petri ke-4 atau pada pengenceran hingga 10^{-4} . Cawan petri diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 3-5 hari dengan posisi terbalik, setelah media memadat. Jumlah koloni jamur yang tumbuh diamati dan dihitung setelah 3 hari masa inkubasi,

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data yang diperoleh adalah data kuantitatif yang dianalisis dengan cara menghitung jumlah mikrob yang tumbuh. Hasil tersebut kemudian dibandingkan dengan persyaratan sesuai dengan Peraturan BPOM RI Nomor 39 Tahun 2019 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Cara menganalisis hasil pengujian sesuai dengan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Departemen Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2000. Rumus perhitungan adalah sebagai berikut:

$$\text{Total Bakteri} = \text{Jumlah Koloni Bakteri} \times \frac{1}{\text{Pengenceran} \times \text{Volume}}$$

dinyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri dalam per gram atau per millimeter dari sampel.

Hasil penelitian pada uji angka lempeng total pada dan uji angka kapang/khamir pada disajikan pada Tabel 1 dan 2 :

Tabel 1. Hasil uji Angka Lempeng Total (ALT)

Pengenceran	Jumlah Koloni			Nilai ALT (cfu/mL)
	Cawan Petri I	Cawan Petri II (duplo)	Rata-rata	
10^{-1}	27	30	28,5	2850
10^{-2}	0	2	1	1000
10^{-3}	0	0	0	0
10^{-4}	0	0	0	0
Total Nilai ALT (cfu/mL)				3850

Hasil pada Tabel 1, dapat dihitung dan dianalisis sesuai dengan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Departemen Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2000. Hasil uji ALT dari sampel daun sirsak menunjukkan angka 3850 cfu/mL atau $3,85 \times 10^3$ cfu/mL. Total nilai ALT tersebut sudah memenuhi standar keamanan yang ditentukan oleh Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Persyaratan standarisasi cemaran mikrob untuk uji ALT yang terkemas dalam bentuk sediaan semi padat adalah $\leq 10^7$ koloni/g.

Tabel 2. Hasil uji Angka Kapang/*Khamir* (AKK)

Pengenceran	Jumlah Koloni			Nilai AKK (cfu/mL)
	Cawan Petri I	Cawan Petri II (duplo)	Rata-rata	
10^{-1}	22	22	22	2200
10^{-2}	1	1	2	1000
10^{-3}	0	0	0	0
10^{-4}	0	0	0	0
Total Nilai AKK (cfu/mL)				3200

Hasil pada Tabel 2 dapat dihitung dan dianalisis sesuai dengan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Departemen Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2000. Hasil uji AKK dari sampel daun sirsak menunjukkan angka 3200 cfu/mL atau $3,2 \times 10^3$ cfu/mL. Total nilai AKK tersebut sudah memenuhi standar keamanan yang ditentukan oleh Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Persyaratan standarisasi cemaran mikrob untuk uji ALT yang terkemas dalam bentuk sediaan semi padat adalah $\leq 10^4$ koloni / g.

Uji ALT dan Uji AKK menggunakan cara metode sebar (*spread plate method*). Uji ALT yaitu dengan menghitung jumlah mikrob aerob mesofilik (*colony forming unit/cfu*) yang dapat tumbuh dalam per gram atau per millimeter dari sampel. Analisa ini hanya dapat mengetahui jumlah mikrob saja tanpa mengetahui spesifikasi jenis mikrob yang tumbuh. Hasil dari analisa ini dapat digunakan sebagai indikator untuk menggambarkan derajat kontaminasi dari suatu bahan pangan (Puspandari, 2015). Analisa ini dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri ke dalam suatu media di cawan petri (Mulyani *et al.*, 2016). Uji AKK adalah kelompok mikroorganisme yang termasuk dalam Fungi. Mikroorganisme ini memiliki

manfaat yang menguntungkan di perairan karena mampu merombak senyawa organik kompleks menjadi sederhana (Noverita, 2019). Perbedaan antara kapang dan khamir dapat dilihat dari bentuknya. Kapang memiliki bentuk seperti kapas dan biasanya berwarna putih dengan inti hitam di tengahnya. Sedangkan khamir merupakan koloni biasa tanpa filamen atau serabut (Prastyowati, 2014).

Media yang digunakan dalam uji ALT adalah PCA. Media PCA mengandung triptone 5.0 gr/L, ekstrak ragi 2.5 gr/L, glukosa 1.0 gr/L dan agar 9.0 gr/L untuk nutrisi pertumbuhan bakteri dengan pH $7,0 \pm 0,2$. Bakteri dapat tumbuh optimum pada pH 6,5-7,5 (Puspandari, 2015). *Plate Count Agar* merupakan media agar yang umum digunakan untuk penumbuhan bakteri karena mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan mikroorganisme heterotrof. Selain itu, media ini juga tidak mengandung agen inhibitor yang hanya membatasi pertumbuhan mikrob tertentu saja, sehingga hampir semua mikrob mesofil aerob dapat tumbuh pada media ini.

Media agar yang digunakan dalam uji AKK adalah PDA yang mengandung ekstrak *potato*, glukosa, dan agar. Glukosa dan *potato*/kentang merupakan sumber energi untuk memproduksi konidia dari kapang/khamir. Agar merupakan polisakarida asam yang diekstraksi dari ganggang merah tertentu. Sel-sel yang terletak diatas atau pembedahan padat tidak dapat bergerak. Karena itu, jika beberapa sel diletakkan dalam atau pada pembedahan, maka tiap sel akan tumbuh dan membentuk sebuah koloni yang terpisah. Media PDA direkomendasikan untuk menumbuhkan dan menghitung kapang dan khamir dalam butter dan produk makanan lainnya. Menurut Noverita (2019) kapang dan khamir dapat tumbuh pada rentang pH pertumbuhan bakteri (6,5-7,5), namun pertumbuhan optimumnya pada pH 5-6, sehingga media yang digunakan cocok untuk pertumbuhan kapang dan *khamir*. Uji AKK menggunakan media PDA yang ditambahkan antibiotik amoxicillin 2 gram yang bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada media sehingga yang tumbuh pada media hanya kapang dan *khamir*.

Pemeriksaan ALT dan AKK untuk mengetahui sterilitas media dan pengenceran serta keaseptisan selama pengujian maka digunakan uji kontrol (blanko) media PCA dan uji kontrol (blanko) media PDA. Uji kontrol media digunakan untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh murni berasal dari sampel dan uji kontrol pengenceran digunakan untuk menjamin bahwa sampel tidak terdapat kontaminan. Tujuan saat inkubasi sampel dengan pembalikan cawan adalah agar uap air yang terjadi selama proses inkubasi tidak menetes

kedalam media agar, sehingga tidak akan mengganggu selama proses pengamatan dan perhitungan jumlah koloni bakteri. Perlakuan duplo dengan tujuan untuk mengantisipasi kesalahan atau kegagalan pada penanaman sehingga masih ada cadangan yang berisi inokulum yang sama dan untuk membandingkan hasil kedua pengenceran yang sama jika memiliki cemaran mikrob yang nilainya jauh berbeda maka kemungkinan terdapat kesalahan atau kontaminasi pada saat penanaman (Indrasuari *et al.*, 2014).

Rendahnya angka koloni mikrob ini dikarenakan adanya kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam sampel daun sirsak. Kandungan senyawa-senyawa aktif yang ada daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan, antifungi, dan antibakteri yang tinggi (Kim *et al.*, 2015). Daun sirsak juga mengandung senyawa antimikrob golongan fenol, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri yang mampu berperan sebagai senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikrob (Handrianto, 2016). Kandungan fitokimia *annanaceous acetogenine* pada ekstrak daun sirsak merupakan agen aktif antibakteri (Rohdiana *et al.*, 2018). Kandungan komponen biokimia juga terdapat dalam daun sirsak yaitu berupa saponin dan kandungan flavonoid dalam adas yang mampu menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Hasanah, 2014).

SIMPULAN

Cemaran mikrob pada daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang terdiri dari uji ALT dan uji AKK menunjukkan bahwa layak dan memenuhi standar yang ditentukan oleh aturan BPOM RI Nomor 32 tahun 2019 mengenai persyaratan mutu obat tradisional (bentuk sediaan semi padat).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai cemaran mikrob bakteri patogen yang terdapat dalam bentuk sediaan semi padat misal bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2019. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor;381/MENKES/SK/III/2000 Tentang Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fahrimal Y, Razali D, Adi C, Syaui I, Roslizawaty. 2010. Penggunaan Tepung Biji Sirsak (*Annona muricinata*) Sebagai Akarisida Pada Sapi Dan Kambing. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 3(2): 24-39.
- Hardianto P. 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah *Zingiber officinale* var. *Rubrum* Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Research and Technologies*. 2(1): 2460-5972.
- Hasanah M. 2014. Perkembangan Teknologi Budi Daya Adas (*Foeniculum vulgare* Mill). *Jurnal Litbang Pertanian*. 23(4): 20-26.
- Indrasuari AAA, Wijayanti NPAD, Dewantara IGNA. 2014. Standarisasi Mutu Simplisia Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*, L.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 3(1): 99-101.
- Kim EC, Min JK, Kim TY, Lee SJ, Yang HO, Han S, Kim YM, Kwon YANG. 2005. Gingerol, a pungent ingredient of Ginger, inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 335(2): 300-308.
- Lindari PC. 2018. Monitoring Perubahan Lahan Sawah dan Alih Kepemilikan Lahan di Kecamatan Ubud Berbasis Remote Sensing dan GIS. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 7(2): 2301-6515.
- Mulyani H, Sri HW, Venny IE. 2016. Tumbuhan Herbal Sebagai Jamu Pengobatan Tradisional Terhadap Penyakit Dalam Serat Primbon Jampi Jawi Jilid I. *Jurnal Penelitian Humanoira*. 21(2): 73-91.
- Noverita. 2019. Identifikasi Kapang dan Khamir Penyebab Penyakit Manusia Pada Sumber Air Minum Penduduk Pada Sungai Ciliwung dan Sumber Air Sekitarnya. *Vis Vitalis*. 02(2): 1978-9513.
- Prastyowati A, Lorensia MEP, Fransiskus SP. 2014. Kualitas Kimia dan Mikrobiologi Permen Keras Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) sebagai Pakan Ternak Tambahan. *Jurnal Sain Veteriner*. 32(2): 0126-0421.
- Puspandari N, Ani I. 2015. Deskripsi Hasil Uji Angka Lempeng Total (ALT) Pada Beberapa Susu Formula Bayi. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 5(2): 106-112.
- Rohdiana, Dadan, Arief DZ, Budiman A. 2018. Aktivitas Penghambat Pertumbuhan Bakteri pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Penelitian Kefarmasian Indonesia*. (5)2: 106-112.
- Standar Nasional Indonesia. 2018. *Standar Nasional Indonesia Uji Cemar Mikroba SNI 01-2332-2018*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Tagboto S, Townson S. 2011. Antiparasitic properties of medicinal plants and other naturally occurring products. *Advance Parasitology*. 50(2): 199-295.
- Walaa IM, Asmaa OA, Elsayed RF. 2018. Clinical and Laboratory Studies on Canine Atopic Dermatitis in Dogs. *SCVMJ*. 13(1): 119-126.
- Widyanti AI, Suartha IN, Erawan IGMK, Anggreni LD, Sudimartini LM. 2018. Hemogram Anjing Penderita Dermatitis Kompleks. *Indonesia Medicus Veterinus*. 7(5): 576-587.

Wiryana IKS, Damriyasa IM, Dharmawan NS, Arnawa KAA, Dianiyanti K, Harumna D.
2014. Kejadian Dermatosis yang Tinggi pada Anjing Jalanan di Bali. *Jurnal Veteriner*. 15(2): 217-220.